
ANNALES
DE
L'INSTITUT PASTEUR

ACARIENS ET CANCERS

(Avec les pl. IV, V, VI et VII.)

PAR A. BORREL

AVEC LA COLLABORATION DE MM. GASTINEL, INTERNE DES HOPITAUX,
ET C. GORESCU

Les expériences de transmission du cancer de la souris à la souris ou du rat au rat ne sont que des expériences de greffe; elles n'ont jusqu'ici pas mis en évidence un virus cancéreux qui puisse réaliser chez un animal neuf la transformation des cellules normales en cellules cancéreuses, et ces expériences paraissent donner raison aux partisans de la théorie purement cellulaire : la cellule cancéreuse, germe latent, ou aboutissant d'irritations chroniques non spécifiques, suffirait seule à expliquer le développement d'une tumeur.

L'observation montre cependant que les tumeurs de la souris ou du rat se développent de préférence dans certaines cages, dans certains élevages, et ce fait, que j'ai signalé pour la première fois, parle en faveur de quelque cause locale au développement du cancer. Il y a des cages à cancer, comme il y a des maisons, des rues, des pays à cancer.

Sur cette donnée, j'avais émis l'hypothèse du cancer maladie miasmatique, comme les coccidioses ou le paludisme, du cancer inoculé par quelque parasite (ecto-ou endo-parasite, suivant les cas) capable d'apporter le virus en bonne place, au contact des *cellules réceptrices* et de réaliser dans la nature l'inoculation que nous ne savons pas encore faire au laboratoire.

J'ai signalé plusieurs cas de sarcome, d'adéno-carcinome de l'intestin, du foie ou du rein chez le rat, tumeurs dans lesquelles un helminthe présent au centre de la lésion pouvait être incriminé : Regaud, Saul, ont publié des observations identiques; Bridré a vu récemment un sarcome fuso-cellulaire du foie, déve-

loppé chez le rat autour d'une poche à cysticerque. Dans 2 cas de lymphome chez la souris, j'ai pu mettre en évidence des Nématodes présents dans le système circulatoire de l'animal. Et toutes ces *coïncidences* ne semblent pas pouvoir être expliquées facilement par le fait seul du hasard.

Pour d'autres tumeurs, pour le lympho-sarcome de Sticker,

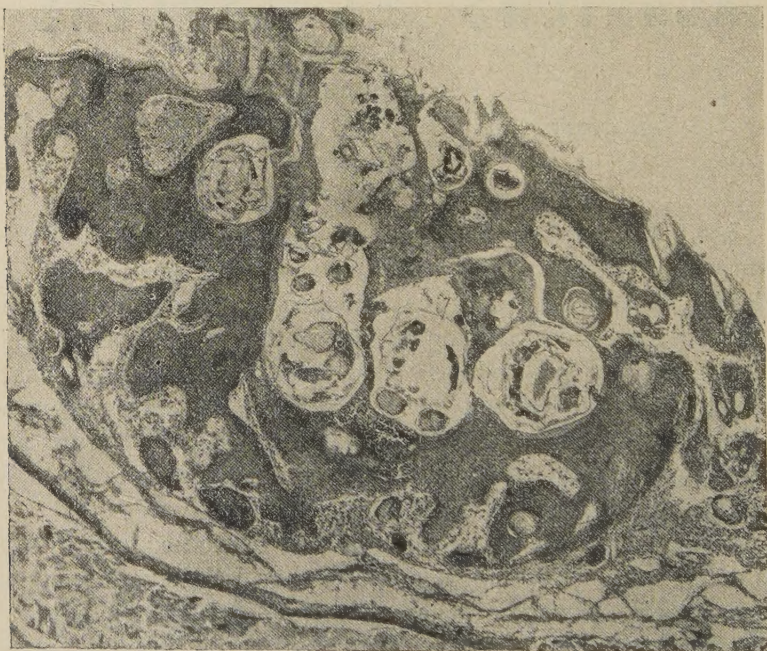


Fig. 1. — Tumeur de l'oreille, cancroïdes multiples chez le rat. Acariens logés dans le tissu malpighien.

transmissible par le coït, j'ai constaté la présence d'acariens dans les nodules initiaux de la tumeur spontanée. Des acariens aussi, chez le rat, développent une maladie des oreilles et du nez qui se caractérise par la formation de cancroïdes véritables (fig. 1) et déjà, dans un rapport au Comité international, j'avais donné une observation d'épithélioma de la face chez l'homme, dans laquelle des ecto-parasites, probablement des *Demodex*, présents dans les follicules en voie de transformation, pouvaient être considérés comme agents de la transformation (fig. 2).

Depuis le mois d'octobre, j'ai repris cette étude et continué mes recherches dans cette direction, chez l'homme. Grâce à l'obli-

geance de M. le D^r Thibierge et avec la collaboration de M. Gastinel, Interne des Hôpitaux, j'ai eu à ma disposition un certain nombre de cancers de la face.

J'ai toujours choisi les cas d'épithéliomas tout à fait jeunes,



Fig. 2. — Epithélioma de la région malaire. Toute la tumeur est dans la figure; elle avait microscopiquement 2-3 millimètres de diamètre. — Acariens dans les follicules en voie de transformation.

à l'état naissant, à la période de transformation du tissu normal en tissu cancéreux, dans l'espoir d'y saisir la cause directe ou indirecte de la transformation. Il est certain qu'à ce point de

vue les tumeurs anciennes et très développées sont beaucoup moins favorables; elles ne peuvent montrer que l'extension du tissu néoplasique par multiplication cellulaire.

Dans un service de maladies cutanées, il est assez facile de trouver des cas propices : cancers initiaux aperçus sur des malades qui viennent pour toute autre cause, ou réinoculations cancéreuses chez des sujets porteurs d'une tumeur ancienne. Rien n'est plus fréquent que ces tumeurs successivement développées sur le même malade en différentes régions de la face, et cela seul est déjà un fait intéressant.

Les cas les meilleurs sont les tumeurs de 1, 2 ou 3 millimètres de diamètre; les cancers ayant plus de 1/2 centimètre carré de surface ont été systématiquement délaissés. Les tumeurs étudiées ont été surtout les cancers du système pileux, à point de départ folliculaire ou sébacé.

Je puis déjà dire que, dans tous les cas étudiés, j'ai pu constater la présence d'acariens nombreux, soit dans les follicules en voie de transformation, soit dans les follicules ou les glandes sébacées immédiatement situées au pourtour de la lésion cancéreuse (12 malades étudiés en octobre-décembre 1908).

Pour cette étude microscopique, une technique spéciale a été suivie :

Les fragments biopsiés ont été immédiatement fixés dans le liquide suivant :

Eau	350 grammes.
Acide osmique	2 —
Acide chromique	3 —
Chlorure de platine.....	2 —
Acide acétique glacial.....	20 —

Après inclusion à la paraffine, les coupes sont faites *parallèlement* à la surface cutanée, *collées sur lame* en série complète : l'étude de chaque tumeur comporte environ 200 coupes, nécessaires pour étudier les différentes zones intéressantes et les différents étages du système pileux depuis l'ouverture superficielle jusques et y compris les glandes sébacées.

Coloration par rouge Magenta, picro-indigo-carmin, suivant la technique déjà indiquée dans un précédent mémoire. (Les théories parasitaires du cancer, février 1901, *Annales Institut Pasteur*).

A l'aide de cette méthode, les Acariens, lorsqu'ils sont pré-

Tissu cancéreux.

Hypertrophie glandulaire et acariens.

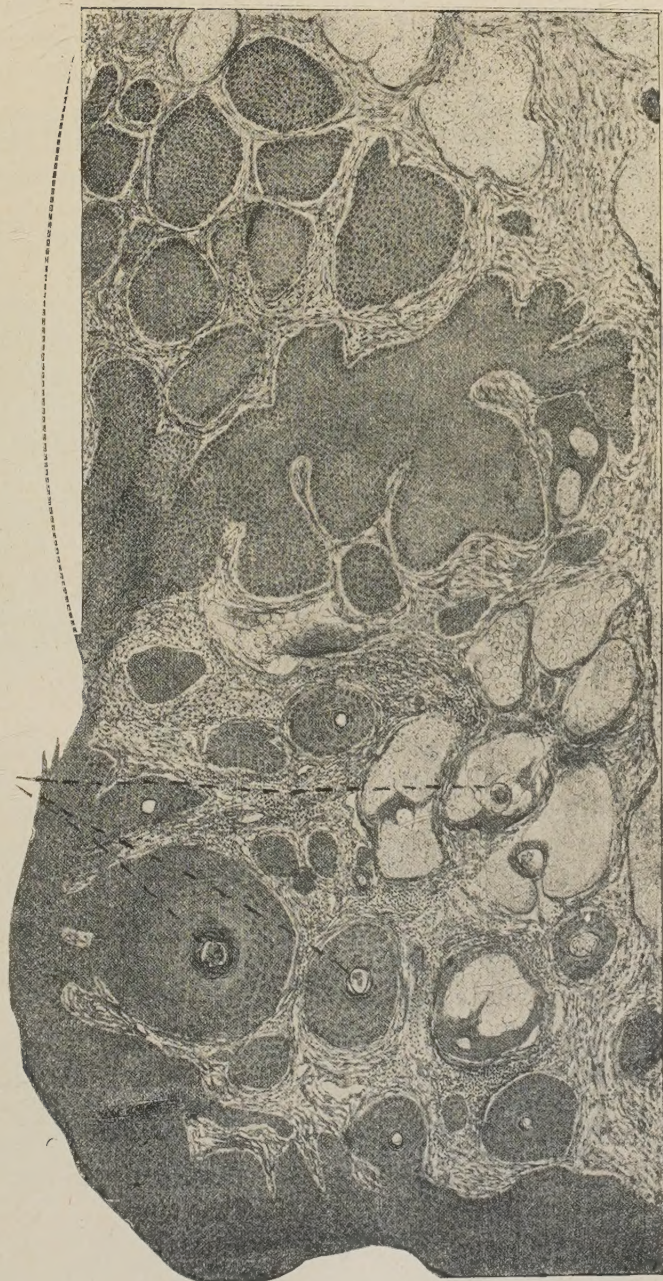


Fig. 3. — Type d'épithélioma des follicules pileux avec acariens. — Coupe parallèle à la surface cutanée.

sents, sont faciles à reconnaître *avec un peu d'habitude*. Par d'autres méthodes de fixation ou de coloration, ils ont pu passer inaperçus ou ont été considérés comme de vulgaires squames épidermiques.

Voici d'abord les observations cliniques et l'étude microscopique des différents cas dans l'ordre où ils se sont présentés :

I. — M. J., 39 ans, cimentier, entré le 14 octobre 1908 à l'hôpital Saint-Louis, dans le service de M. Thibierge.

Rien à signaler dans les antécédents héréditaires ou personnels. A 20 ans, le malade remarqua qu'il portait à la partie supérieure du sillon naso-labial une petite tache bleutée, saignant facilement, ayant les dimensions d'une petite lentille. Cette tache se recouvrait sans cesse d'une croûte qui tombait pour être remplacée par une autre. Après 2 ou 3 ans, cette tache commença à grossir et atteignit la dimension d'un petit pois. A l'âge de 30 ans (il y a 9 ans), le malade remarqua que sa lésion commençait à se creuser très légèrement. La croûte tombée laissait une très petite dépression. Il y a 4 ans environ, l'ulcération formant un véritable « trou », le malade alla consulter à Saint-Louis et fut traité en 1906, *en une seule séance*, par la radiothérapie et très amélioré pendant 8 à 10 mois.

En 1907, l'ulcération récidiva et reprit les dimensions primitives. A la date du 14 octobre 1908, le malade portait une lésion ulcérée de la dimension d'un gros pois, avec un bourrelet très net, dur au toucher, et une infiltration circonscrite, assez profonde. Autour du point ulcéré, la lésion est recouverte d'une croûte qui tombe en provoquant une petite hémorrhagie.

Au moment où la 1^{re} lésion s'ulcéra, le malade s'aperçut qu'il poussait, à 2 c. 1/2 de la lésion primitive, *une tache bleutée tout à fait semblable à la première* et qui rappelait exactement la lésion initiale sur laquelle s'était greffé le 1^{er} épithélioma. Les deux lésions sont biopsiées le 14 octobre et examinées microscopiquement, ainsi qu'un fragment de peau saine prélevée du côté droit de la joue, symétriquement.

1^{re} pièce. — *Epithélioma ancien* développé dans le système pileaire et envahissant de proche en proche, à la périphérie, les follicules et les glandes sébacées. Nombreux acariens dans les glandes sébacées très hypertrophiées. (Fig. 3.)

2^e pièce. — *Hypertrophie adénomateuse des glandes sébacées.*
Cette 2^e lésion, relativement récente, avait pu être confondue

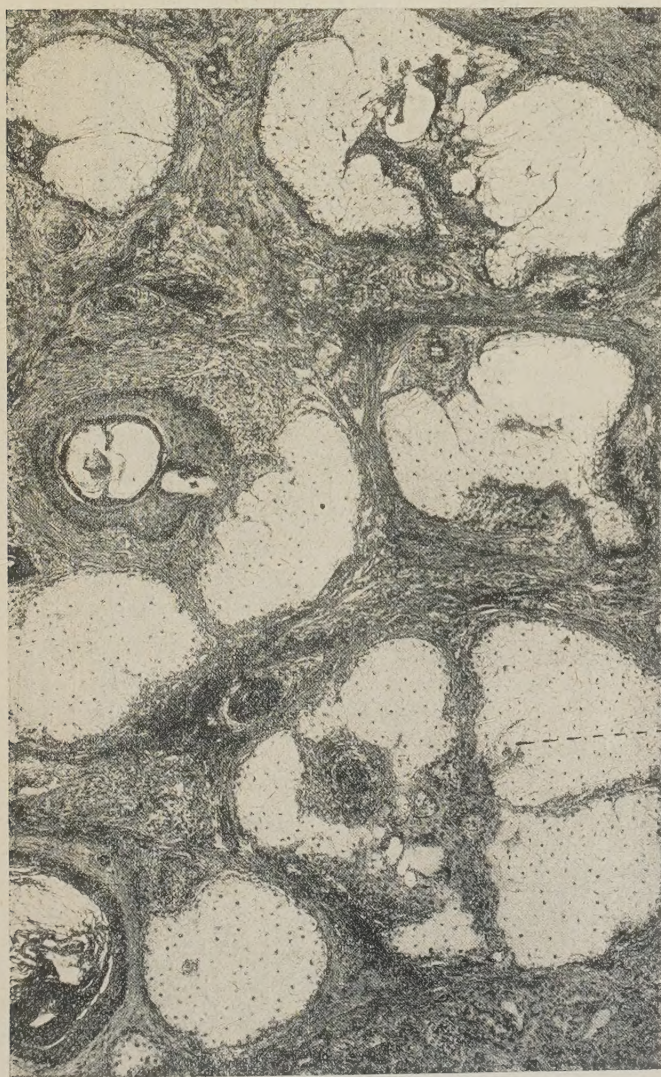


Fig. 4. — Hypertrophie des glandes sébacées constituant une sorte de noëvus développé au voisinage de la tumeur épithéliomateuse au moment où cette tumeur s'est ulcérée. Photographie directe de la coupe.

cliniquement avec un noëvus pigmenté. Les coupes et les figures montrent qu'il s'agit d'une hypertrophie des glandes sébacées correspondant à une dilatation considérable des orifices et des

follicules pileux. Des acariens en nombre considérable sont situés

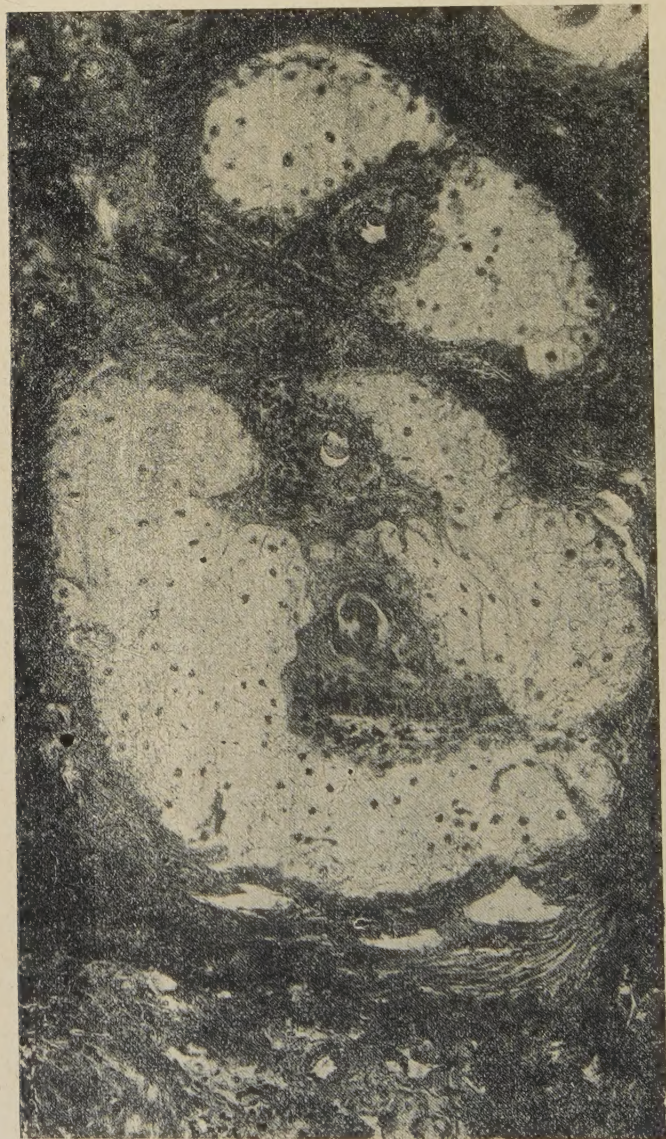


Fig. 5. — Un lobe glandulaire de la coupe précédente, montrant des parasites au centre d'une réaction cellulaire.
(Photographie directe de coupe.)

sur toute la hauteur et tout le trajet des poils et des glandes. Rien ne permet de porter un diagnostic d'épithélioma. (Fig. 4 et 5.)

Les faits cliniques laissent penser que sur ce *nœvus*, identique au *nœvus* initial, point de départ du 1^{er} épithélioma, se serait développée ultérieurement une formation cancéreuse : l'examen microscopique confirme en effet les dires du malade, la zone d'extension de l'épithélioma initial a la même structure et présente la même hypertrophie glandulaire : celle-ci doit être attribuée sans aucun doute au développement des colonies d'acariens en ce point.

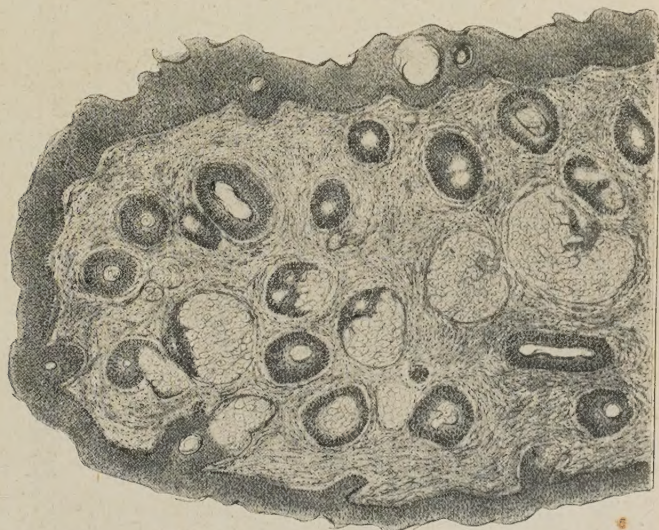


Fig. 6. — Peau saine du même malade prélevée en une région symétrique.

3^e pièce. — La peau saine du malade est normale, pas d'hypertrophie glandulaire, pas d'acariens. (Fig. 6.)

II. — M^{me} V^{ve} D., 62 ans, a remarqué, depuis deux ans, qu'elle portait au-dessous de la paupière gauche, sur le rebord malaire de l'orbite, un petit bouton gros comme une lentille; ce bouton se recouvrait sans cesse d'une croûte qui tombait facilement et était remplacée par une autre. Depuis six mois, le bouton s'est mis à grossir, il s'est ulcéré en juillet 1908.

A cette même époque, la malade remarqua une plaque un peu rouge à l'angle oculo-nasal droit.

Actuellement, la lésion ancienne a un bord induré et présente

une zone d'infiltration profonde, 1 centimètre de surface environ; la lésion récente a simplement un aspect érythémateux. Une



Fig. 7. — Tumeur épithéliale au début. La figure montre des follicules en voie de transformation avec une réaction lymphatique autour des follicules qui contiennent des parasites. Nombreuses figures de karyokinèse.

zone assez grande de peau saine est prélevée par biopsie au moment où l'on énuclée les deux lésions.

L'examen microscopique du 1^{er} fragment montre un épithé-

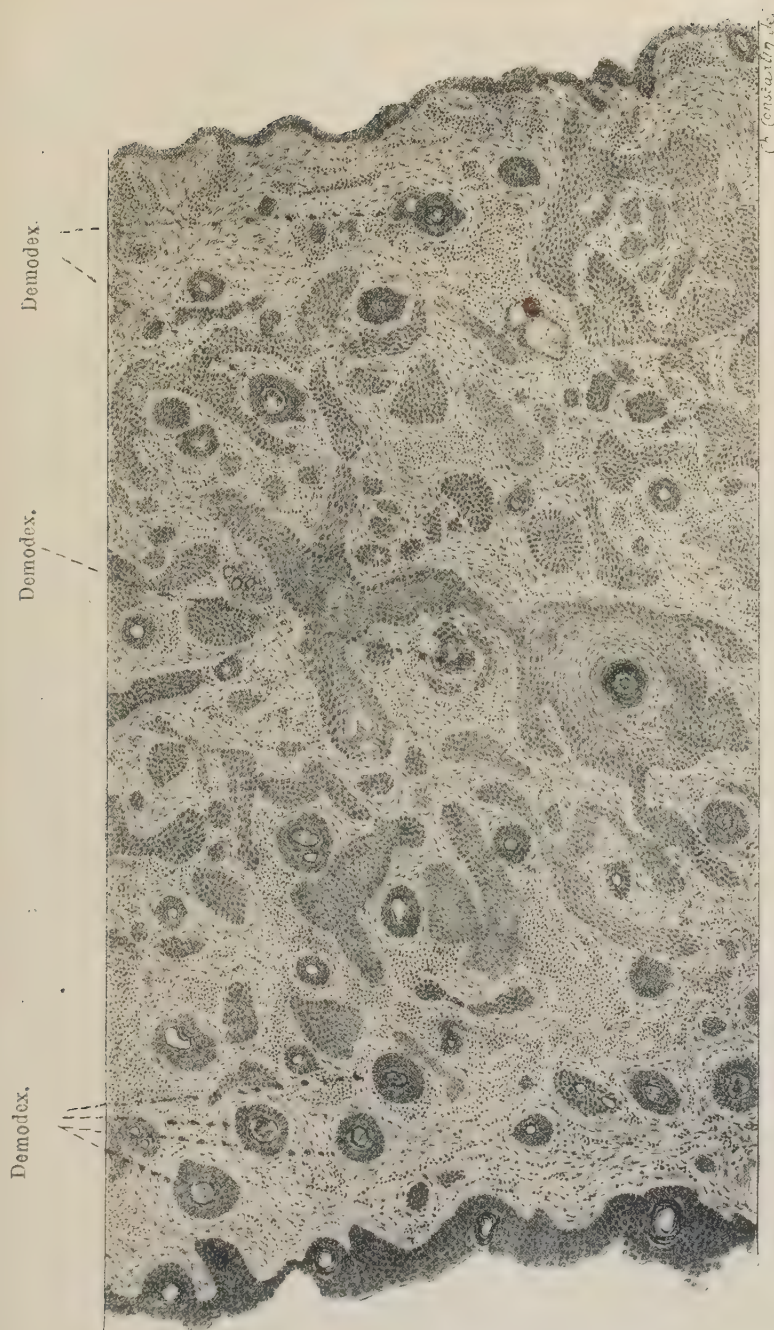


Fig. 8. — Coupe totale de la tumeur, sont marqués les follicules contenant les parasites, et qui n'ont pas encore subi la transformation cancéreuse.

lioma typique; dans la zone périphérique d'envahissement, les follicules pileux dilatés contiennent de nombreux acariens. L'étude des coupes faites en série montre que ces follicules hypertrophiés sont entourés par des zones de tissu infiltrées de lymphocytes.

Le 2^e fragment présente dans tous les follicules de nombreux parasites et une infiltration considérable de lymphocytes; on ne peut déceler de réaction néoplasique proprement dite. La peau examinée en dehors de la lésion est saine et sans parasite.

III. — M^{me} C. Marie, 64 ans. — Entrée à l'hôpital pour une lésion probablement tuberculeuse de la joue droite, s'est aperçue qu'elle portait aussi à la partie supérieure gauche du nez un bouton présentant cliniquement l'aspect d'une verrue; début il y a un an.

Ce bouton est biopsié, l'examen histologique permet le diagnostic d'un épithélioma au début, différencié d'un papillome simple par le nombre considérable des figures de karyokinèse et par l'infiltration lymphatique sous-jacente. Acariens présents, dans le centre des follicules en voie de transformation et dans les follicules immédiatement voisins. (Fig. 7.)

IV. — M^{me} D., 50 ans.

1^{re} pièce. — Epithélioma typique de la région supérieure gauche du nez. Début en décembre 1907 (1 an), 5 millimètres de diamètre, acariens nombreux dans les follicules périphériques. (Fig. 8.)

2^e pièce. — Petite tumeur, grosse comme une lentille, siégeant à la partie moyenne gauche du nez. Début il y a deux mois. Examen microscopique montre une hypertrophie glandulaire caractéristique de deux follicules pileux avec acariens nombreux; l'un des follicules est manifestement en voie de transformation épithéliomateuse (Fig. 9).

V. — M. F., 71 ans. Début il y a 4 ans, lésion de l'aile droite du nez, épithélioma typique, 5 millimètres. Acariens dans les follicules périphériques.

VI. — M^{me} S., 66 ans, porte un épithélioma ayant débuté il y a 8 ans par une petite écorchure de la joue droite, presque à la racine du nez. Cet épithélioma existe encore actuellement et a été traité par cautérisation. Il est très développé.

Il y a 2 mois, la malade s'est aperçue qu'elle avait une légère induration sur le côté gauche du nez. Elle éprouve à ce niveau une légère cuisson, et l'examen à la loupe montre une lésion exco-riée de la peau, triangulaire, avec un rebord un peu saillant et

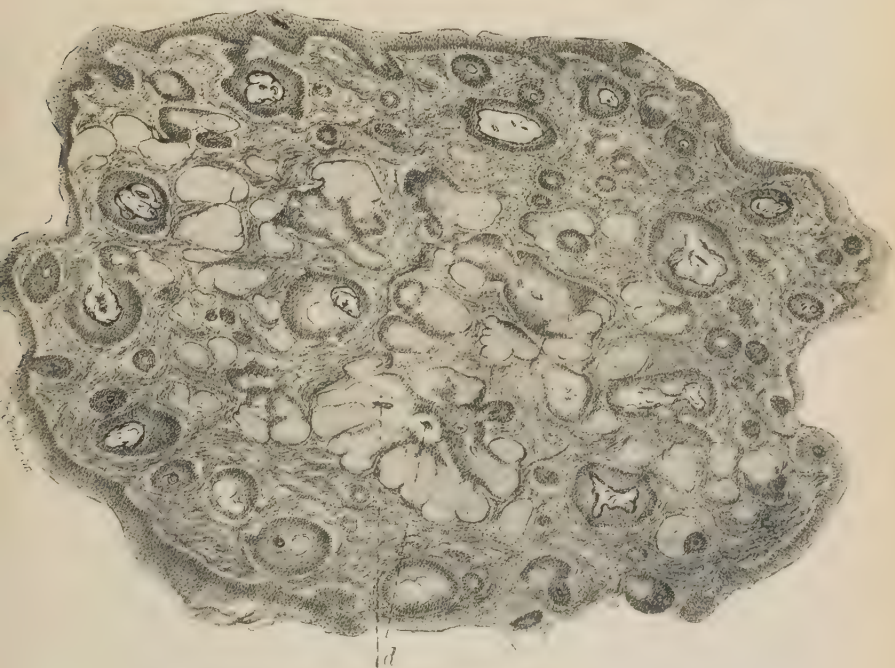


Fig. 9. — Hypertrophie glandulaire à acariens (d. Demodex).

infiltration profonde : 1 millimètre à 2 millimètres de diamètre.

L'examen microscopique de cette pièce biopsiée a été des plus suggestifs. Toutes les coupes faites en série ont été montées, de sorte qu'il a été possible de reconstituer toute la lésion; ces coupes nous ont permis de voir et de saisir sur place le mode de transformation des cellules normales en cellules cancéreuses. C'est bien là le type de l'épithélioma à l'état naissant.

La zone cancéreuse est marquée par une infiltration lymphocytaire, développée autour des follicules en voie de transformation, et cette infiltration se retrouve depuis la surface et les

1^{res} coupes jusque dans la profondeur, au niveau des glandes sébacées. 200 coupes parallèles à la surface ont été montées, permettant de suivre chaque système pileux depuis l'orifice externe jusque dans les glandes, hypertrophiées et infectées d'acariens. Dans cette pièce, il est manifeste que le développement du cancer se fait progressivement et par envahissement de proche en proche; comme si, la transformation cancéreuse d'un follicule étant réalisée, les colonies d'acariens se transportaient dans les follicules voisins encore normaux et les contaminaient successivement.

Sur les planches IV et V, consacrées entièrement à ce cas typique, il est facile de voir que trois centres de transformation existent à un degré plus ou moins avancé.

Le centre cancéreux A se retrouve sur toute la hauteur du follicule pileux. Il est manifeste que ce follicule a envoyé des dendrites radiaires dans les plans parallèles à la surface et ces dendrites se retrouvent sur toutes les coupes : ils correspondent à un même centre cancéreux; les coupes de la profondeur montrent les glandes sébacées de ce poil, extraordinairement hypertrophiées et très infectées. Le centre cancéreux B ne se trouve que dans les coupes les plus superficielles; les dendrites cancéreux, n'ont encore apparu que dans les parties les plus voisines de la surface. Il présente une particularité fort intéressante à notre point de vue : une larve jeune de demodex se trouve libre, en dehors du follicule, exactement au centre du foyer néoplasique. (Voir pl. V, fig. 2.)

Le centre C, à dendrites courts et à peine distincts comme néoplasiques, ne se trouvent que de la 60^e à la 80^e coupe : c'est le centre le plus récent. Dans toute la partie cancéreuse et dans les cavités très dilatées des follicules en transformation, on constate de nombreux acariens en voie de multiplication; on en trouve aussi dans les follicules immédiatement voisins, dilatés mais non cancéreux encore : ces derniers auraient certainement participé bientôt à la formation du thalle cancéreux initial, constitué par la *transformation des cellules normales en cellules cancéreuses*, et chacun de ces follicules serait devenu le point de départ des bourgeons cancéreux capables de s'irradier au loin *par multiplication cellulaire*.

J'avais déjà signalé dans mon travail sur le « Problème du

cancer » cette distinction fondamentale de deux processus cancéreux : la pièce actuelle, que j'ai étudiée à fond, en donne une démonstration évidente, et elle permet en plus, semble-t-il, de constater sur place et *de visu* la cause et l'agent de cette transformation progressive, les Acariens en nombre énorme. Ceux-ci sont bien visibles dans le cancer à l'état naissant; ils disparaîtront bien sûr, lorsque l'ulcération et la suppuration, gagnant de proche en proche, n'auront laissé subsister aucune trace du thalle initial et que restera seulement l'image des bourgeons néoplasiques en voie de multiplication.

VII. — M^{me} C., 58 ans. Epithélioma profond du nez ayant débuté il y a 14 ans et perforé la voûte palatine. La malade est en outre couverte de verrues séborrhéiques sur le nez, la face, le front, la main, datant de 8 ans au moins et qui sont restées stationnaires. Il y a 6 ans, à Toulouse, la malade fut opérée pour une *verruve égratignée*; 6 biopsies ont été faites en différents points. toutes ces biopsies ont montré une infiltration lymphatique énorme autour de follicules qui paraissent présenter un début de transformation épithéliomateuse, l'orifice des follicules est très dilaté et rempli de débris informes, qui, d'après nous, représentent le gîte de parasites disparus.

Une fois seulement (verruve du front), il a été possible de voir quelques acariens autour de la lésion manifestement épithéliomateuse : un seul follicule atteint.

Dans ce cas d'Epithéliomatose diffuse, les nodules secondaires, nodules de réinoculation, incontestablement cancéreux, sont restés stationnaires depuis 8 ans, ils ne se sont pas ulcérés, comme si la teneur principale avait vacciné jusqu'à un certain point l'organisme.

On trouve des faits de même genre avec les verrues, verrue mère et verrues secondaires, et on les observe aussi dans d'autres Epithélioses.

Peut-être plus tard des faits de ce genre en cancer prendront-ils de l'intérêt?

Au point de vue acarien, je considère ce cas comme négatif; faut-il en chercher la cause dans l'ancienneté des lésions : 8 ans et 14 ans?

VIII. — M^{me} C. Ulcération au niveau de l'articulation tem-

poro-maxillaire droite, début il y a 3 mois, au niveau d'une coupure faite par un rasoir.

Epithélioma assez étendu, 1 centimètre de diamètre; rares parasites à la périphérie; cas douteux!

IX. — M^{me} D., 72 ans. Malade présente à la joue gauche, à 1 cent. de l'aile du nez et au-dessous de l'œil, un groupe de lésions cliniquement épithéliomateuses.

1^{re} pièce. — La plus interne se présente sous forme d'une nodosité à type kystique du volume d'un gros pois. Cette nodosité est comme enchassée dans un rebord cutané qui l'enserme à sa base; léger état variqueux de la surface kystique de la tumeur. Considéré cliniquement comme un épithélioma perlé, début il y a 6 mois. (Voir pl. VI fig. 4.)

2^e pièce. — A 1 1/2 cm. de la précédente se trouvait une autre tumeur grosse comme un pois, saillante, à aspect corné, noirâtre, dure, infiltrée à la base. Epithélioma squameux à l'examen microscopique.

Début 3 mois environ.

3^e pièce. — A 1 cm. de cette dernière tumeur, une petite lésion dont le début ne peut être précisé, mais que la malade affirme ne pas remonter à plus de 1 mois.

La lésion a l'aspect d'une petite papule excoriée, infiltrée. L'examen microscopique des 3 tumeurs montre, dans la zone d'extension, des parasites acariens; mais la tumeur la plus jeune, n° 3, est surtout intéressante à ce point de vue.

Les coupes ont été examinées toutes et comprennent toute la tumeur; il est facile de constater que les acariens sont là encore, exactement à la limite exacte du tissu cancéreux en voie de transformation, et il semble bien manifeste que c'est eux qui règlent cette transformation (voir pl. VI, fig. 1-2-3) et ici encore les glandes sébacées correspondantes montrent des parasites. Au point de vue anatomo-pathologique, il est remarquable de voir la différence de structure et d'aspect des 3 tumeurs voisines, situées côte à côte sur la même malade.

X. — M. F., 75 ans. — 4 petites tumeurs prélevées sur la joue droite du malade. Sur tout le corps, ce malade est porteur de ver-rues séborrhéiques typiques et fort développées.

Deux des fragments biopsiés sont des épithéliomas malpighiens au début. Ils contiennent des acariens nombreux, dans toute la hauteur des follicules pileux et dans les glandes sébacées.

Les deux autres fragments présentent un type d'épithélioma très particulier, développé aux dépens des cellules pigmentées basales et la tumeur, encore très superficielle, est constituée par une vraie injection des conduits lymphatiques. Ce sont des bourgeons cellulaires pleins, cylindriques, à cellules pigmentées.

Toutes ces pièces sont infectées de parasites.

Je n'ai au contraire pas trouvé de parasites dans la peau saine du même individu, et n'ai pas eu la chance de rencontrer d'acariens dans une biopsie de verrue séborrhéique prélevée dans le dos du malade.

XI. — M. L., 74 ans. 5 décembre 1908. Lésion très petite de la partie supérieure du nez, côté gauche, dépression irrégulièrement circulaire, à bords indurés, 2 millimètres de diamètre; début tout récent, puisque le malade ne l'avait pas encore aperçu.

Au dire du patient, sur le côté opposé du nez, pendant 6 ou 8 ans aurait existé un bouton semblable, recouvert d'une croûte, qui aurait fini par guérir.

A l'examen microscopique, il s'agit ici encore d'un épithélioma au début, marqué par une très légère ulcération et des dendrites du tissu malpighien autour de deux follicules pileux présentant au centre des acariens typiques. Ce cas est incontestablement l'un des plus jeunes.

XII. — Le dernier malade que j'ai étudié, en collaboration avec M. Laroche, interne des hôpitaux, a été particulièrement intéressant. Il s'agit d'un homme de 45 ans, porteur depuis 8 ans d'un épithélioma assez développé de la région temporale. Depuis et successivement sont apparues chez lui des tumeurs en grand nombre, et actuellement le malade porte sur toute la face, le front, le nez, les joues, des épithéliomas à tous les degrés de développement (plus de 100). Plusieurs biopsies ont été faites et chacune des lésions examinées doit être considérée comme une nouvelle tumeur de réinoculation. L'une de ces tumeurs à peine visible, 1/2 millimètre de dia-

mètre, figure 10-C, a pu être étudiée totalement et sur les coupes en série, faites de la surface vers la profondeur (80 coupes environ); la tumeur a pu être examinée en entier; elle était constituée par un follicule pileux unique.

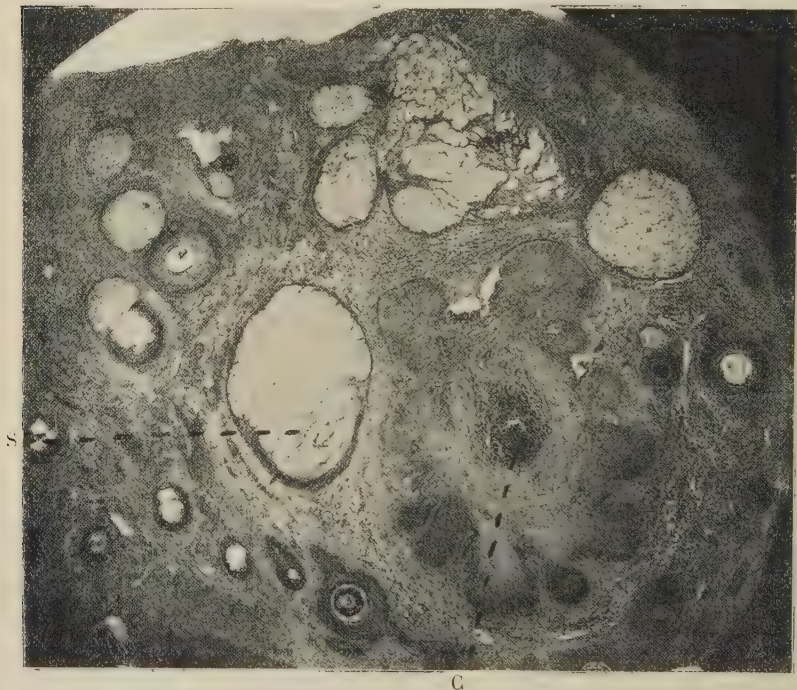


Fig. 10. — Epithéliomatose généralisée de la face. — Un nodule de réinoculation C. Glande sébacée et acarien en S.

Il a été possible de trouver dans la glande sébacée figure 10-S, correspondant au poil devenu cancéreux, un parasite profondément situé, alors que les follicules normaux ne contenaient pas de parasites.

Dans un follicule voisin, figure 11, manifestement au début de la transformation cancéreuse, centre d'une réaction lymphatique, se trouvaient deux acariens. Les dimensions des parasites paraissaient plus grandes que celles du demodex ordinaire, et l'aspect semblait différent. S'agit-il toujours d'une même espèce?

Les examens à l'état frais que j'ai pu faire jusqu'ici sont

trop incomplets pour que je puisse affirmer que les acariens vus sur les coupes chez le cancéreux ou chez les personnes saines appartiennent à une seule et même espèce. L'étude complète de la faune cutanée, au point de vue de la spécification,

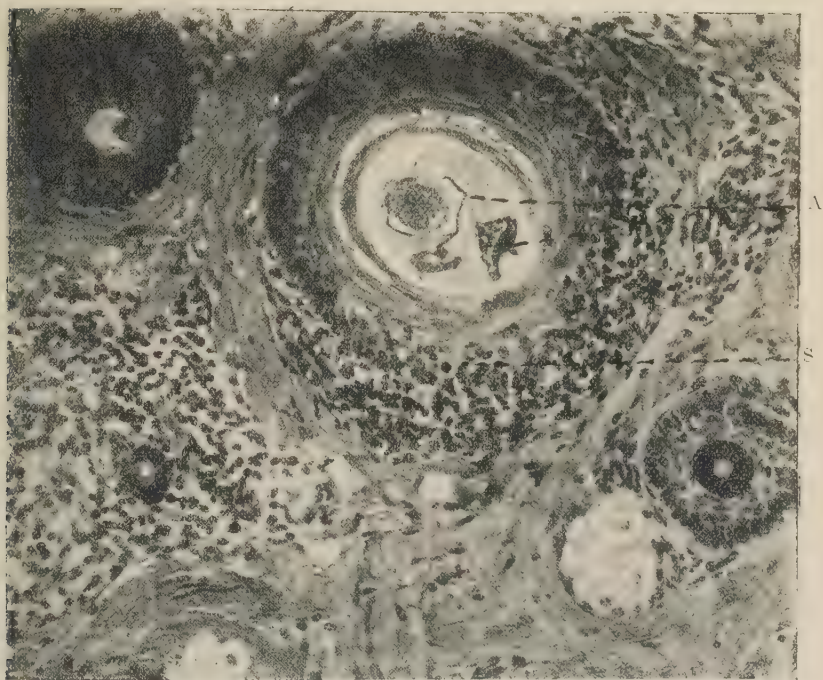


Fig. 11. — Epithéliomatose généralisée de la face. A, un follicule en voie de transformation; 2 parasites dans la lumière du follicule.

ne pourrait être faite qu'à l'autopsie : elle serait intéressante dans ces cas de cancers multiples de la face.

De tels cas d'Épithéliomatose sont à notre point de vue du plus haut intérêt. Comment ne pas être frappé de ces réinoculations successives sur le même malade? Comment nier que ces tumeurs cancéreuses soient d'origine parasitaire, lorsqu'on les voit s'ensemencer ainsi, presque sous les yeux de l'observateur? *Ce sont des réinoculations*, j'insiste sur ce point, et non pas des disséminations métastatiques du processus initial, et l'on voit précisément, dans les réinoculations que l'on saisit

à l'état naissant, les parasites que nous incriminons comme agents de la dissémination.

Comment ne pas être frappé aussi de l'analogie que présentent ces cas d'Epithéliomatose avec les Epithélioses : tumeur principale et tumeurs cancéreuses secondaires rappellent la verrue mère et les verrues secondes; elles rappellent aussi les tumeurs multiples du *molluscum contagiosum*.

Dans les Epithélioses aussi, les localisations secondaires restent toujours moins développées, elles sont plus discrètes que la manifestation initiale; dans les cas d'Epithéliomas multiples, l'organisme semble aussi jusqu'à un certain point vacciné, non pas contre l'extension de la tumeur principale, mais contre le développement des réinoculations secondaires. Ces faits, ajoutés à bien d'autres, parlent beaucoup en faveur de quelque virus cancéreux plus ou moins analogue au virus de nos épithélioses.

Avec notre hypothèse, l'acarien ne serait que le vecteur, l'agent d'inoculation d'un virus cancéreux encore inconnu, mais bien probable. Ce que semble faire l'acarien pour les cancers du système pileux, d'autres parasites peuvent le faire pour d'autres localisations des processus cancéreux. Peut-être aussi que dans certains cas, à la faveur de simples associations microbiennes, le virus cancéreux spécifique peut s'implanter dans l'organisme (syphilis et cancer, etc., etc.)

Les cellules réceptrices pour le virus cancéreux peuvent se développer sous des influences diverses.

Voilà donc 12 cas d'épithéliomas où la présence constante d'acarions, probablement des *demodex*, a pu être constatée dans les follicules en voie de transformation cancéreuse ou dans les follicules immédiatement voisins et ces faits m'ont paru actuellement assez intéressants pour être publiés : jusqu'ici leur présence avait passé inaperçue. Pour un observateur non prévenu, ces parasites sont souvent difficiles à reconnaître.

Je rappellerai que, dans cette recherche, les cancers à l'état naissant seulement doivent être étudiés; les figures qui accompagnent le récent travail de M. Borrmann (1) représentent pour nous déjà des cancers avancés. La fixation chloro-chromo-acéto-

(1) BORRMANN, *Die Entstehung und das Wachstum des Hautcarcinoms*. Zeitschr. f. Krebsforschung, Bd II, 1904.

osmique avec coloration par Magenta et picro-indigo, montre très bien les acariens. Les coupes doivent être collées sur lame et examinées en série complète de 5 en 5 ou de 10 en 10, si on ne veut pas laisser échapper des données utiles. La tumeur doit être tout entière contenue dans la série des coupes avec une bordure notable de tissu sain ou de tissu en voie de transformation. La technique des coupes transversales parallèles à la surface cutanée nous a toujours paru beaucoup plus instructive.

Sur de telles coupes, il est facile de voir, dans presque tous les cas, que les follicules deviennent cancéreux successivement, par contamination de surface. J'ai insisté déjà sur ce mode de développement et sur la multiplicité des centres de formation du thalle cancéreux initial. Ce processus initial de transformation cellulaire ne peut pas être facilement expliqué en dehors d'une hypothèse parasitaire.

Le bourgeonnement ultérieur, l'envahissement des ganglions, les métastases lointaines, la possibilité de greffes, démontrent que le développement de la cellule cancéreuse une fois créée n'a pas de limite, mais les cellules cancéreuses *initiales* proviennent de cellules normales *successivement transformées* par contamination de voisinage : de même se constituent, dans les pustules, les cellules vaccinales ou claveleuses, de même se développent les cellules du molluseum ou de l'épithélioma contagieux.

La multiplication est limitée dans le cas des Epithéliose : elle est illimitée dans les cancers.

La présence presque constante d'acariens au niveau des follicules en voie de transformation cancéreuse me paraît donc bien établie par les observations qui précèdent, tous malades de ville entrés à l'hôpital depuis 1 ou 2 jours au moment de la biopsie.

Il sera facile en étudiant des cas semblables des Épithéliomas à l'état naissant, de vérifier s'il s'agit, non d'une coïncidence banale, mais d'une loi générale, et, dans ce cas, notre hypothèse d'ecto-parasites capables de provoquer la transformation des cellules normales en cellules cancéreuses deviendrait très forte, au moins pour les épithéliomas du système pileaire.

Les observations cliniques montrent que la lésion initiale

(précancéreuse, pourrait-on dire) peut rester longtemps sous forme de *nœvus* mal caractérisé au point de vue clinique, mais très bien caractérisé au point de vue histologique comme une hypertrophie des glandes sébacées du système pileaire atteint. Cette hypertrophie est toujours due à la présence des acariens dans ces glandes et à leur multiplication. En ces points surtout, se développent les tumeurs.

Dans les peaux saines (nez ou face) que j'ai examinées sur biopsie (20 cas), j'ai rencontré souvent des *demodex folliculorum* typiques, mais beaucoup moins nombreux que dans les cas d'épithélioma, et ne produisant pas de lésion véritable. J'estime à 50 0/0 le nombre des humains infestés par des *demodex* au lieu d'élection sur le visage. Chez les jeunes sujets, cette proportion est plus faible, et les acariens envahissent rarement les glandes sébacées elles-mêmes. Mes observations portent sur une série de 20 individus de différents âges, 20 à 70 ans. Examen sur coupes. — Malades d'hôpital: Nul doute que chez les individus soigneux de leur personne la proportion des infestés ne soit moins considérable.

La présence fréquente de *demodex* chez les personnes saines ne suffit pas, à notre avis, pour faire rejeter l'hypothèse que nous envisageons ici : le rôle possible des *demodex* (ou d'une espèce d'acariens plus ou moins voisine), comme agents d'inoculation d'un virus encore inconnu, plus ou moins voisin des virus des Epithélioses. Agent d'inoculation, le *demodex* peut l'être certainement, et lorsque des colonies nombreuses sont installées dans les glandes sébacées, nul doute que des effractions ne puissent être produites, soit dans la glande elle-même, soit au niveau de l'insertion du conduit glandulaire sur le follicule pileux ; or c'est là, semble-t-il, qu'apparaissent de préférence les tumeurs.

Les cancers de la face sont surtout fréquents au nez et dans les régions les plus habituellement habitées par ces parasites, et fréquents surtout à partir d'un certain âge, qui correspond, chez l'homme ou la femme, à l'affaïssement de la peau, à la dilatation des follicules, à l'hypertrophie sébacée : c'est l'âge des verrues séborrhéiques et de la *crasse* des vieillards ; toujours

le microscope nous a montré dans ces lésions des acariens en nombre, en véritables colonies.

Il peut se faire aussi que tous les demodex ne soient pas également dangereux. Existe-t-il des variétés? On sait si peu de chose sur ces parasites, trop oubliés depuis Gruby (1843).

De même qu'il y a des Anopheles inoffensifs, s'ils ne sont pas eux-mêmes infectés par le parasite de Laveran, de même certains demodex peuvent être inoffensifs et d'autres dangereux, s'ils viennent d'un cancéreux et s'ils portent un virus, puisqu'ils sont capables d'introduire le virus en bonne place.

La question du cancer de la face ainsi envisagée suggère beaucoup d'hypothèses et ces hypothèses pourront peut-être, avec les animaux, être soumises à l'expérimentation, qui seule peut donner une preuve définitive.

Je dois encore signaler ici des observations microscopiques qui permettent de poser le même problème pour les cancers mammaires. Depuis deux mois, j'ai eu sept cancers du sein à ma disposition, grâce à MM. Walther, Récamier, Delbet, chirurgiens des hôpitaux de Paris, et je les remercie de leur obligeance; j'ai trouvé six fois sur sept des demodex en grand nombre au niveau du mamelon (toujours par la méthode des coupes collées sur lame en série, coupes faites parallèlement à la surface). Au niveau du mamelon, les conduits galactophores viennent se grouper; 5 à 6 conduits galactophores aboutissent à un même orifice cutané, et il y a 3 ou 4 centres de groupement; sur ces orifices s'insèrent aussi des glandes sébacées nombreuses. (Voir pl. VI, fig. 5.) Dans les cas que j'ai étudiés, il n'était pas rare de voir 50 à 100 parasites logés dans les glandes sébacées correspondant à un seul système galactophore : or, la communication entre les conduits galactophores et les glandes sébacées se fait au niveau de l'orifice commun, d'une façon tout à fait évidente. Combien s'expliquerait facilement la genèse d'un carcinome du sein, superposable à la genèse d'un cancer de la face, s'il était possible de supposer que de tels parasites, présents sur le tégument externe, peuvent quelquefois faire fausse route et pénétrer au loin par les conduits galactophores, ou bien contaminer par leurs déjections ces mêmes conduits!

Récemment, mon ami, le professeur Gosset, m'a donné l'occasion de faire une constatation intéressante chez une femme qu'il avait opérée d'un cancer du sein gauche, il y a deux ans. Ce cancer était survenu à la suite d'une lésion eczémateuse du mamelon. Il y a quelques mois, la même lésion du mamelon fut



Fig. 12.

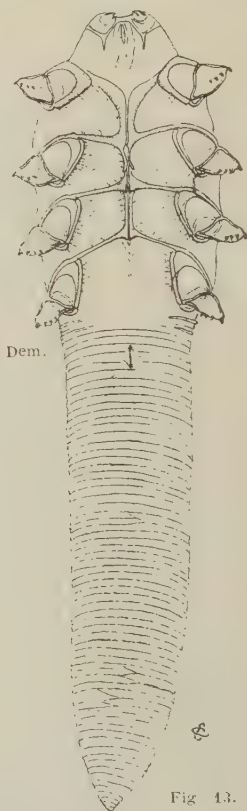


Fig. 13.

Fig. 12. — Parasites à état vivant, par expression des glandes du mamelon.
 Fig. 13. — Demodex femelle, crochets insérés sur les pattes.

constatée sur le sein droit, et au point de vue clinique le diagnostic « maladie de Paget » fut porté. Ce mamelon extirpé présente une lésion villeuse hypertrophiante de l'épiderme, et les glandes sébacées très développées contiennent des acariens en très grand nombre. Il suffit de soulever les croûtes qui recouvrent l'épiderme, de racler les parties superficielles du mame-

lon et l'orifice des glandes, pour avoir sur des préparations à l'état frais — 15 et 20 acariens.

La figure ci-jointe est une photographie de tels parasites. à l'état frais et vivant, au grossissement de 90. M. Chatton a bien voulu dessiner pour moi, très habilement, l'un de ces parasites, qui montre bien les caractères principaux du Demodex.

Sur les coupes, les mêmes Demodex se retrouvent et cette pièce est surtout remarquable par l'extraordinaire développement du système des glandes sébacées. Il sera intéressant de suivre ultérieurement l'histoire de cette femme, qui n'a actuellement pas de tumeur cancéreuse appréciable dans le sein droit (non opéré).

Sur 9 mamelons sains prélevés à l'autopsie chez des femmes au-dessus de 50 ans, je n'ai trouvé que 2 fois des demodex et en petit nombre.

Dans les nombreux examens que j'ai faits, peau du nez, de la face, du mamelon, j'ai toujours noté un développement beaucoup plus considérable du système et des glandes sébacées chez les cancéreux. Les cliniciens ont de tout temps signalé aussi la prédisposition au cancer de certains épidermes.

Chez les souris, où les expériences seraient possibles, il est beaucoup plus difficile de se procurer un matériel favorable. Dans mon élevage actuel qui comprend 4,000 souris, j'ai eu depuis un an 20 cas de cancer spontané, environ, mais il est fort difficile de saisir les tout premiers débuts des tumeurs, et le plus souvent, lorsqu'on découvre la souris cancéreuse, le cancer a pris un développement notable; il est gros comme une lentille ou comme un grain de riz : le stade initial est déjà passé.

Deux fois seulement, j'ai pu examiner en coupes complètes des cancers mammaires au début, gros comme un grain de plomb n° 4. J'ai pu d'abord me rendre compte que ces tumeurs de la souris, qui paraissent mobiles sous la peau et libres dans le tissu cellulaire, sont toujours en relation avec l'extérieur par l'orifice glandulaire, et deux fois j'ai pu trouver des acariens au niveau du mamelon dans les glandes sébacées situées au pourtour de l'orifice du conduit galactophore, unique chez la souris; dans un cas, ces parasites avaient développé un adénome des glandes

sébacées péri-mammaires, et jusqu'ici, *seulement chez les souris cancéreuses*, j'ai trouvé des acariens dans les glandes sébacées.

Ici encore, la même hypothèse trouverait sa place et expliquerait les réactions mésodermiques autour des fragments chitineux que l'on rencontre souvent dans les cancers jeunes de la souris.

Dans le même ordre d'idées, je dois rapporter une observation non moins suggestive.

Dans une cage, 5 souris vieilles restaient en novembre 1908, survivantes d'un lot de 12 animaux. Sur ces 5 souris, 3 étaient cancéreuses, un cancer mammaire et deux cancers de la nuque (derrière l'oreille); les 2 souris à tumeur de la nuque avaient une lésion de l'oreille, l'une très avancée, l'autre toute petite.

La 1^{re} lésion a été un cancer malpighien typique; la 2^e, toute petite, était un adénome des glandes sébacées.

L'une des souris est morte et sa tumeur a été coupée; la tumeur s'irradiait manifestement autour du conduit auditif et des acariens en grand nombre ont été trouvés au centre de la tumeur. — La 2^e souris vit encore.

On trouve très facilement chez la souris des acariens qui vivent à la surface de l'épiderme, des myobies, des myocoptes; mais il est très rare de trouver des acariens fouisseurs, vivant dans les glandes sébacées : jusqu'ici je n'en ai rencontré que chez les souris cancéreuses et en des points très limités.

De tels parasites, présents dans les cages et capables de passer de souris à souris, expliqueraient très bien la forte proportion de cancers obtenus dans certaines cages et certains élevages; mais il ne semble jusqu'ici pas facile de réaliser à volonté les conditions de la contagion, qui se trouvent pourtant exister spontanément dans les élevages cancéreux.

L'homme, le chien, le rat, la souris etc., ont des demodex; ils sont souvent cancéreux; existe-t-il aussi des demodex ou des acariens capables de vivre dans les glandes du lapin ou du cobaye, qui n'ont jamais de cancer cutané?

On sait si peu de chose sur les parasites de notre peau et pourtant ces parasites pourraient bien jouer un certain rôle dans la pathologie humaine, puisque sans cesse ils labourent notre épiderme ou pullulent dans nos glandes.

De tels parasites, capables de vivre dans le milieu extérieur,

expliqueraient la persistance de la contagion possible dans une famille, dans une maison, ou dans une cage, et la notion de l'hérédité cancéreuse pouvait être envisagée sous un jour nouveau. La contagion des demodex n'est-elle pas le type des contagions intimes et familiales?

En pathologie végétale, le rôle des acariens est mieux connu et ce rôle est intéressant au point de vue que nous envisageons dans le présent mémoire : la plupart des gales végétales et beaucoup de tumeurs des feuilles, tilleul, vigne, etc., sont dues à des parasites très voisins de nos acariens, des phytopes.

Me basant sur toutes ces analogies et surtout sur les observations microscopiques précises que j'ai rapportées ci-dessus, je pense que le problème du cancer mérite plus que jamais d'être envisagé à ce point de vue.

Ecto-parasites pour les cancers superficiels, endo-parasites pour les cancers internes, pourraient être dans bien des cas les agents d'inoculation d'un virus cancéreux, ou tout au moins favoriser l'infection cancéreuse. Une hygiène prudente devrait déjà s'en préoccuper.

Les statistiques nous disent et les cliniciens savent que les cancers de la face sont surtout fréquents chez les gens de la campagne, chez les personnes qui ne se lavent pas ou qui se lavent mal. Les observations que j'ai rapportées prouvent que d'autres régions du corps, le mamelon par exemple, chez la femme, sont souvent habitées par des Demodex et que Demodex et Cancer, là encore, vont souvent ensemble.

Il serait peut-être bon, même au point de vue de l'hygiène générale, de débarrasser notre épiderme de ces parasites sédentaires et silencieux, parasites héréditaires par excellence, qui se sont jusqu'ici trop fait oublier, parce qu'ils n'occasionnent aucune gêne appréciable : ils doivent jouer un rôle dans la dissémination de bien des infections (1).

(1) Un cas de lupus tuberculeux récent, étudié avec M. Ravault nous a montré, en un point de réinoculation à quelque distance de la lésion initiale, une folliculite tuberculeuse typique, et la présence, dans le follicule infecté, d'une vraie colonie de Demodex (huit parasites).

EXPLICATION DES PLANCHES

Planche IV.

La planche double représente la série des coupes de la tumeur VI. Mad.-S, 66 ans. Macroscopiquement la tumeur avait 1-2 millimètres de diamètre. Les 6 figures sont prises de 20 en 20 coupes.

Elles démontrent d'abord, d'une façon évidente, l'indépendance des centres de formation d'un cancer.

Le centre A, le plus ancien part de la surface fig. 1 et se retrouve sur toute la hauteur du poil (fig. 2, 3, 4 5, 6);

Dans la figure 4 et 5, ce centre cancéreux est manifestement développé autour du follicule et le poil est reconnaissable encore.

Dans les fig. 4, 5, 6, se trouvent les glandes sébacées de ce système pileux, elles sont très hypertrophiées et infestées d'acariens.

Dans la figure 6, le centre A a disparu, il ne reste qu'un nodule d'infiltration lymphatique.

Le centre B, beaucoup plus récent, se retrouve depuis la surface jusqu'à la 60^e coupe. Le centre C est encore plus jeune et ne se voit que de la 60^e à la 80^e coupe.

En B et C on voit bien le follicule pileux, centre de la transformation cancéreuse et on y constate la présence de nombreux parasites.

Tout autour se trouvent des follicules pileux dilatés, infestés d'acariens et nul doute que, eux aussi, auraient ultérieurement participé à la formation du thalle cancéreux.

Planche V. — Détails à un fort grossissement de la même tumeur.

Fig. 1. — Le centre cancéreux A se voit développé aux dépens de 2 follicules pileux qui contiennent encore des débris de poils.

S. conduits des glandes sudoripares.

d. demodex dans les glandes sébacées très hypertrophiées, ce sont les glandes du poil cancéreux.

Fig. 2. — Centre cancéreux B, développé autour d'un follicule qui contient de nombreux parasites; un parasite est libre dans le tissu néoplasique.

Fig. 3. — Centre cancéreux C, à peine indiqué par quelques dendrites néoplasiques (A).

Planche VI.

Les figures 1, 2, 3 représentent les coupes en série de la petite tumeur constatée chez M^{me} D., 72 ans. Page 112.

La malade portait au-dessous de l'œil 3 tumeurs de type différent :

1^o un épithélioma corné datant de 1 an.

2^o un épithélioma kystique datant de 6 mois, figuré dans la planche, figure 4.

3^o un épithélioma tout à fait jeune, 1 millimètre de diamètre, qui a été dessiné en série : 3 figures à 10 coupes d'intervalle. D. D. demodex.

Tout autour de la lésion et dans les follicules immédiatement voisins sont des acariens; ces follicules sont entourés d'une réaction lymphatique très nette.

Fig. 4. — Un épithélioma kystique prélevé sur le même malade à 1 cent. du précédent.

Fig. 5. — Coupe d'un mamelon dans un cas de cancer du sein; en A, puits galactophore central;

en G, G, conduits galactophores qui, dans les coupes plus superficielles, viennent s'aboucher dans le puits central;

en D, D, glandes sébacées contenant plusieurs parasites.

Planche VII. — Follicule pileux en voie de transformation cancéreuse initiale dans un cas d'épithéliomatose de la face. — Reproduction directe de la préparation, en couleur par le procédé trichrome. — Maison Hentschel.

ACARIENS ET LÈPRE

(Avec la pl. VIII.)

PAR A. BORREL

L'étiologie de la lèpre est encore entourée de mystère : on a invoqué, pour expliquer la contagion lépreuse, le rôle de parasites variés, puces, punaises, moustiques, etc.

Les recherches que nous avons entreprises sur le rôle des acariens dans la contagion du cancer nous ont suggéré la même hypothèse pour la lèpre.

La lèpre, comme le cancer, a toujours passé pour une maladie héréditaire; la contagion familiale lépreuse est de toute évidence et l'épidémiologie de la lèpre indique d'une façon évidente que l'agent de la contagion doit être un agent de contagion intime et sédentaire.

A cause de cela, les ecto-parasites sédentaires de, l'homme, et les demodex en particulier, ont appelé notre attention, et nous avons à ce point de vue étudié les tissus lépreux.

Nous ne connaissons pas le virus cancéreux, mais nous pouvons suivre au microscope le bacille lépreux.

Tous les auteurs ont signalé la fréquence de la localisation initiale de la maladie lépreuse à la face et au nez surtout.

Babes (1), dans un mémoire fort intéressant (1898), a mis en évidence la systématisation des lésions lépreuses et des tubercules lépreux autour des follicules et des glandes sébacées : il avait été amené à penser, par l'étude des lépromes au début (lésion initiale), que la pénétration devait se faire au niveau des orifices pileux et des glandes sébacées.

Nous avons eu à notre disposition des lépromes prélevés par biopsie, sur le nez de lépreux en pleine activité par le docteur Brault d'Alger et par le docteur Lie de Bergen, et nous avons pu trouver dans cette étude une base morphologique à notre hypothèse sur le rôle possible des acariens et du demodex en particulier dans la contagion lépreuse.

Les figures, dessinées très exactement, dans la planche, montrent la structure d'un léprome du nez tout à fait démonstratif à notre point de vue.

(1) BABES, *Histologie der Lepra*, Berlin, 1898.

La figure 3 est une coupe longitudinale du léprome nasal; à ce faible grossissement, les bacilles qui se trouvent par milliers et millions dans les tubercules lépreux et les cellules lépreuses sont colorés en rouge et apparaissent comme amas intra-cellulaire dessinant les contours des tubercules lépreux; la systématisation des tubercules autour des follicules et autour des glandes sébacées est de toute évidence.

En d. d. d. se trouve la coupe sagittale d'un système pileux et sébacé; le follicule extraordinairement dilaté communique largement avec le système des glandes sébacées et celles-ci sont envahies par le tissu lépreux, comme cela est visible dans la figure 4, faite à un plus fort grossissement.

A ce niveau, il y a eu une communication des bacilles lépreux avec l'extérieur, par effondrement du système glandulaire et le microscope montre des milliers de bacilles dans l'ouverture même du follicule.

Dans ce follicule se trouvent aussi des parasites, des demodex, et bacilles et demodex sont en contact intime, la contamination possible de l'acarien par le bacille de Hansen n'est pas douteuse, nous nous sommes même demandé sur certaines préparations si des bacilles lépreux ne se trouvaient pas à l'intérieur du parasite. Ce point particulier ne peut être affirmé; mais ce qui est hors de doute, c'est le contact possible et l'infection de surface de l'acarien par le bacille de Hansen.

Le transport et l'inoculation dans le système pileux peut certainement se faire au moment de la migration des parasites d'un nez lépreux à un nez sain.

La figure 2 montre cinq demodex ou acariens logés dans un follicule pileux coupé transversalement et elle montre également beaucoup de bacilles lépreux en amas au milieu des débris cellulaires qui encombrant la cavité du follicule. Ces dilatations des follicules à orifices béants donnent à l'épiderme lépreux un aspect particulier et doivent permettre la pénétration facile de parasites variés (voir figure 1). Tous les follicules ne contiennent pas des bacilles, l'effondrement des glandes sébacées n'est pas un phénomène constant. Il faut, dans notre hypothèse, tout un ensemble de conditions réalisées pour que la contagion se produise et l'on sait bien que la contagion de la lèpre n'est pas fatale.

Il faut que le lépreux soit infesté par des *demodex* ou par d'autres acariens sédentaires (sur coupe, il nous a été impossible de déterminer l'espèce ou la variété des parasites vus).

Il faut aussi que les ecto-parasites soient eux-mêmes contaminés par les bacilles et que soit réalisé le passage de l'acarien du lépreux à l'individu sain : les conditions de la migration sont jusqu'ici inconnues, mais il semble bien qu'un contact intime, qu'une cohabitation prolongée sont nécessaires.

Le milieu familial, la promiscuité du lit ou du vêtement réalisent au mieux toutes ces conditions.

Les acariens du type *demodex* sont par excellence des parasites de famille : on peut dire qu'ils sont héréditaires.

Existe-t-il dans les foyers lépreux quelque variété de parasites qui a disparu de nos contrées indemnes et cette disparition expliquerait-elle la disparition progressive de la maladie? Cette hypothèse mérite aussi d'être envisagée.

Ou bien doit-on attribuer la disparition de la maladie à l'isolement systématique du lépreux, à la notion mieux comprise de la contagion, aux progrès relatifs de l'hygiène?

Dans notre hypothèse, seraient seuls contagieux les lépreux avancés, les lépromes en activité, plus ou moins ulcérés, surtout les lépromes dans lesquels les follicules pileux effondrés permettent l'extériorisation du bacille. Seraient seules dangereuses les manifestations lépreuses qui intéressent les régions à *demodex*, la face surtout.

Chez les lépreux que nous avons examinés, nous avons chaque fois trouvé des *demodex* dans les follicules, mais la contagion doit être surtout à redouter dans les milieux à hygiène douteuse, dans les familles infestées de parasites cutanés, de vermine ou de *demodex*.

Les lépreux que nous avons pu examiner à Saint-Louis, dans le service de M. de Beurman, soignés à l'hôpital, ne peuvent certainement pas être des sources de contagion, les tubercules examinés ne sont pas en activité, ils sont fibreux et contiennent très peu de bacilles; des lésions beaucoup plus avancées et en beaucoup plus grande activité, de tout autres conditions d'existence, sont nécessaires pour que la contagion se produise.

Notre hypothèse repose surtout sur les constatations micros-

copiques et les préparations qui ont été dessinées dans la planche : il manque la démonstration expérimentale qui ne semble pas facile à réaliser.

Mais si notre hypothèse est exacte, elle peut être vérifiée d'une façon indirecte par une prophylaxie basée sur la destruction des acariens, demodex ou autres parasites sédentaires, que nous supposons capables de transporter le virus et de réaliser l'inoculation au niveau de l'insertion des glandes sébacées sur le follicule pileux.

Par des lavages au xylol ou au pétrole, répétés tous les 15 jours ou tous les mois, chez les lépreux, par le lavage de la face, du nez, des oreilles, lieux habituellement habités par les demodex, par la désinfection des vêtements et des objets de literie, faite une fois pour toutes, on doit pouvoir diminuer beaucoup, sinon détruire complètement les acariens, et limiter aussi les chances de contagion lépreuse.

Cette prophylaxie peut être appliquée aussi sur les personnes de la famille exposées à la contagion, et le xylol peut être conseillé pour la toilette de la face, du nez, des oreilles, des mains; le xylol, par expérience personnelle, n'a aucune action irritante sur la peau et pourrait être employé sans danger presque journellement; il a une action destructive très énergique sur les acariens et sur les insectes d'une façon générale. Il peut avantageusement remplacer les eaux de toilette à base d'alcool, jusqu'ici surtout employées pour le visage ou le cuir chevelu. Son action microbicide n'est pas négligeable.

Une telle prophylaxie qui paraît rationnelle ne comporte aucun danger; elle peut être conseillée et expérimentée non pas seulement dans les léproseries, mais surtout dans les foyers, dans les familles où la cohabitation d'un lépreux peut être une source de contamination; elle sera d'ailleurs excellente pour tous les ecto-parasites sédentaires de la peau humaine.

EXPLICATION DE LA PLANCHE VIII

Fig. 1. — Coupe parallèle à la surface d'un léprome du nez : les orifices de follicules plus ou moins dilatés sont visibles.

Toute la figure est teintée en rouge par les amas de bacilles lépreux colorés.

Fig. 2. — Un follicule en coupe transversale. Acariens et bacilles dans le follicule; amas bacillaires dans les cellules lépreuses.

Fig. 3. — Coupe longitudinale et perpendiculaire à la surface de la moitié du léprome. En a, b, c, follicules et glandes sébacées avec acariens.

Fig. 4. — Un follicule avec sa glande effondrée, acariens et bacilles lépreux dans la cavité.

Sur les propriétés protectrices du sérum des animaux trypanosomiés. -- Races résistantes à ces sérums

PAR F. MESNIL ET E. BRIMONT

(Avec la pl. IX.)

ROUGET, en 1896 (1), a constaté que le sérum des lapins et des chiens, infectés de Dourine, et commençant à se cachectiser, possède quelques propriétés préventives. « Inoculé préventivement, à la dose de 1 /3 c. c., le sérum de lapin a empêché la pullulation du Trypan. chez six souris; elles ont résisté, quoi qu'on ait constaté à plusieurs reprises la présence du parasite dans le sang de la queue (1 à 2 par champ de microscope). Chez toutes les autres, nous avons eu une survie variant de 17 à 23 jours. Les résultats ont été les mêmes que l'on ait injecté le mélange fait *in vitro*, ou séparément le parasite et le sérum. »

En novembre 1902, LAVERAN et MESNIL (2), étudiant le Nagana, ont vu que le sérum des chèvres et moutons guéris de cette maladie, avait de faibles propriétés protectrices qui ne se manifestaient guère qu'en inoculant à la souris un mélange de virus et d'une dose relativement forte de sérum (1 c. c. par ex.). Exceptionnellement, ce sérum agit injecté en un point du corps différent du virus. Comme ROUGET, ils constatent que cette propriété apparaît déjà en cours d'infection et ils citent le cas du sérum d'un bouc infecté depuis 47 jours et encore en cours d'infection. NOCARD (3) reconnaissait de son côté que le sérum des bovidés guéris avait de faibles propriétés protectrices. Peu auparavant, SCHILLING (4) avait constaté que le sérum d'un taureau immunisé contre le Nagana était microbicide *in vitro* pour les Trypan. (Le sérum de NOCARD ne l'était pas.)

Toujours en novembre 1902 (5), comparant le Trypan. du Caderas à celui du Nagana, LAVERAN et MESNIL établissaient que les sérums de chèvres et de moutons, guéris du Nagana, et ayant l'immunité, n'avaient, pas plus que des sérums neufs, d'action protectrice vis-à-vis du *Tr. equinum*, alors qu'ils en montraient une vis-à-vis du *Tr. brucei*. Plus tard, les propriétés préventives contre le *Tr. equinum* ont apparu et cela au cours de l'infection (déjà au bout de 1 mois pour le mouton guéri du Nagana) (6).

(1) *Ann. Inst. Pasteur*, t. X.

(2) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XVI; v. pp. 807-810.

(3) *In LAVERAN et MESNIL*.

(4) *Centralbl. f. Bakter., I*, t. XXXI, 1902, p. 452. Voir aussi *Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte*, t. XXI, 1904.

(5) *C. R. Acad. Sciences*, t. CXXXV, p. 838. V. aussi LIGNIÈRES, *Bol. Agric. y Ganad.*, 1^{er} février 1903.

(6) *Trypanosomes et Trypanosomiasés*, Paris, Masson, 1904; v. p. 272.

En 1905, MARTINI (1), dans son mémoire si documenté au point de vue expérimental sur le Nagana du Togo, constate que le sérum de veaux ayant reçu plusieurs (ou même une seule) injections de sang à Tryp. et ayant guéri, de même que le sérum des ânes inoculés avec le virus de passage par souris, était doué de propriétés préventives et agglutinantes. Mélangé à du virus à la dose de 0,5 c. c. pour une souris, il empêchait l'infection. Mêmes résultats avec des chiens. Pas plus que LAVERAN et MESNIL, MARTINI n'a pu élever la force de son sérum.

L'année suivante, KLEINE et MÖLLERS (8), continuant les recherches de MARTINI avec le sérum de ses ânes qui avaient reçu à plusieurs reprises des doses massives de Trypan., constatent que ce sérum est relativement actif puisque, à la dose de 1/2 c. c., il protégeait la souris, donné soit 24 heures avant, soit 24 heures après l'inoculation intrapéritonéale du virus. Les 2 ânes, qui étaient toujours dans un état cachectique, ont fini par succomber; leur sang était infectieux pour le chien à la dose de 20 c. c. Le sérum s'est montré actif vis-à-vis de ces Trypan. retirés des ânes. Si donc il y avait vaccination des Trypan. de l'âne vis-à-vis des humeurs de cet animal, cette propriété ne s'est pas conservée héréditairement.

Le sérum de l'âne, actif sur le Trypan. du Togo, ne l'était plus du tout sur le gambiense.

Entre temps, en 1905, FRANKE (3), à l'Institut d'EHRlich, constatait qu'un singe (*Cercopithecus callitrichus*), guéri du Caderas par un traitement associé (a. arsénieux-trypanot), avait un sérum doué de propriétés agglutinantes et parasitocides: au bout de 2 heures, *in vitro*, tous les Trypan. du Caderas étaient immobiles, alors que l'action était nulle sur les Trypan. du Nagana et de la Mbori (var. de Surra). Le mélange de 1/2 c. c. de ce sérum et du Trypan. du Caderas, injecté à des souris, soit aussitôt fait, soit après 2 heures de contact, n'amène aucune infection; quand on remplace le Trypan. du Caderas par ceux du Nagana ou de la Mbori, l'infection suit sa marche habituelle.

Malgré ces propriétés du sérum, le singe guéri a pu être réinfecté; essayé alors à nouveau, son sérum, après chauffage de 15' à 50° pour détruire ses Trypan., n'a plus protégé complètement les souris qu'après avoir été mis d'abord en contact 2 heures avec les Trypan. En établissant cette coexistence de substances protectrices et de Trypan. dans le sang de son singe, FRANKE corroborait les observations antérieures de ROUGET et de LAVERAN et MESNIL, que KLEINE et MÖLLERS devaient confirmer à leur tour, peu de temps après lui. FRANKE, qui a bien vu que le sérum du singe ne protégeait pas contre les Trypan. retirés en même temps que lui du sang de l'animal, et a insisté sur l'importance biologique du fait, n'a pas recherché si les Trypan. conservaient leur résistance héréditairement.

Cette propriété protectrice des sérums peut-elle être utilisée pour la

(1) *Zeitschr. f. Hyg.*, t. L, 4 avril 1905.

(2) *Zeitschr. f. Hyg.*, t. LII, 1906, p. 229.

(3) *Therapeutische Versuche bei Trypanosomenerkrankung. Inaug. Dissert. Giessen*, G. Fischer, Iéna. V. aussi *Münch. mediz. Woch.*, 17 oct. 1905, p. 2059.

différenciation de Trypan., comme pouvaient le laisser espérer les constatations de LAVERAN et MESNIL, de LIGNIÈRES, de FRANKE, de KLEINE et MOELLERS? L'essai avait été fait avec des Trypan. certainement assez éloignés du Trypan. homologue. Il était donc indiqué de le poursuivre en l'étendant à des Trypan. que leurs caractères morphologiques et pathogènes ne permettent pas de différencier, ceux rentrant dans les grands cadres Nagana et Surra. C'est ce que LAVERAN et MESNIL (1) ont tenté. Ils ont constaté que, en général, les sérums des chèvres, même à des doses de $3/4$ et de 1 c. c. (pour des souris), n'ont aucune action sur les Trypan. que nous pouvons appeler hétérologues. Le sérum d'une chèvre guérie de Nagana n'avait aucune action sur les Trypan. du Caderas, du Surra Indien (sauf dans une expérience où il s'est montré actif à la dose de $1/10$ c. c.). Celui d'une chèvre guérie de Surra n'avait aucune action sur le Trypan. du Nagana; mais il faut remarquer qu'il n'avait qu'une action très faible sur le Trypan. de la Mbori dont l'identité avec le Surra est pourtant hors de doute. Il en résultait des réserves sur la valeur du procédé. Il est pourtant susceptible d'applications; par exemple: il est probable que les virus du Togo (origines Schilling et Martini), qui ne sont nullement influencés par le sérum Nagana, n'appartiennent pas à l'espèce *brucei* (2).

THIROUX (3) a reconnu que le sérum des malades du sommeil, mélangé au *Tr. gambiense*, retarde l'infection des souris inoculées.

Notons enfin qu'une application pratique de ces propriétés des sérums a été tentée par DIESING (4) qui, au Cameroun, a utilisé le sérum d'ânes de l'Adamaoua, guéris et hyperimmunisés, pour permettre à des bovidés de traverser impunément une région infestée de tsétsés.

De ces travaux, il convient de rapprocher ceux qui ont porté sur les propriétés préventives du sérum des rats hyperimmunisés contre le *Tryp. lewisi* (5) et aussi sur les propriétés préventives du sérum humain normal vis-à-vis des Trypan. pathogènes pour les animaux (6). Nous aurons d'ailleurs l'occasion d'y revenir, dans un but de comparaison, au cours de l'exposé de nos recherches.

Depuis deux ans, les auteurs se sont surtout préoccupés des propriétés trypanocides des sérums d'animaux en cours d'infection, avec la préoccupation d'expliquer de cette façon les baisses brusques de Trypanosomes qui se produisent au cours de la maladie chez certaines espèces animales telles que le cobaye et le chien. RODET et VALLET (7), chez le chien, MASSAGLIA (8),

(1) C. R. Acad. Sciences, t. CXVLII, 25 juin 1906, p. 1482.

(2) Cette opinion est fortement corroborée du fait que des caprins guéris du Nagana du Zoulouländ, et ayant l'immunité, se sont infectés des virus du Togo comme les témoins et ont succombé comme eux en moins de deux mois.

(3) C. R. Soc. Biologie, t. LX, 5 mai 1906, p. 778.

(4) Arch. f. Schiffs u. Trop. Hyg., t. IX, oct. 1905.

(5) RABINOWITSCH et KEMPNER, Zeitschr. f. Hyg., t. XXX, 1899; LAVERAN et MESNIL, Ann. Inst. Pasteur, t. XV, 1901.

(6) LAVERAN, C. R. Acad. Sciences, 1^{er} avril 1902; LAVERAN et MESNIL, Ann. Inst. Pasteur, t. XVI, 25 novembre 1902; GOEBEL, Ann. Inst. Pasteur, t. XXI, 1907.

(7) Arch. méd. expér., t. XVIII, 1906. C. R. Acad. Sciences, t. CXIII, 6 août 1909 et t. CXLV, 10 décembre 1907.

(8) C. R. Acad. Sciences, t. CXLV, 21 oct. 1907, p. 687.

chez le cobaye, sont arrivés à constater un léger pouvoir trypanocide du sérum pris au moment de ces chutes brusques, sortes de crises, à condition de ne pas opérer sur les Trypan. qui reparaissent après les crises chez l'animal fournisseur de sérum. Ces Trypan. possèdent donc une certaine immunité vis-à-vis des sérums en question. Aucun des auteurs ne s'est préoccupé de savoir si cette immunité est héréditaire. Ils n'ont pas recherché non plus s'il y a identité ou au moins parallélisme entre le pouvoir trypanocide et le pouvoir protecteur, dont FRANKÉ avait déjà noté la coexistence chez son singe guéri. MASSAGLIA se contente de dire « que le sérum de cobaye infecté, recueilli pendant la crise, avait un pouvoir préventif faible ». En ce qui regarde le pouvoir trypanocide du sérum des bovidés hyperimmunisés, PANSE (1) a confirmé SCHILLING.

La recherche de la déviation du complément par les sérums d'animaux infectés ou immuns en présence d'extraits de sang riches en Trypan., tentée par divers savants, n'a donné jusqu'ici que des résultats nuls ou inconstants, et sans spécificité (2). Une réaction, analogue à celle de WASSERMANN dans la syphilis (antigène : par ex. extrait de foie ou de cœur de cobaye normal), mais moins nette et assez souvent inconstante, a été obtenue par LANDSTEINER, MÜLLER et PÖTZL (3), LEVADITI et YAMANOUCHI (4), HARTOCH et YAKIMOFF (5), BLUMENTHAL (6), SCHILLING et VON HÖSSLIN (7), MANTEUFEL et WOITHE (8). Enfin, LEVADITI et YAMANOUCHI (4) ont eu des résultats positifs avec le procédé de PORGES plus ou moins modifié.

Un pouvoir agglutinant spécifique, si net avec le sérum des rats immunisés contre le *Tr. lewisi*, paraît se présenter sans constance dans le cas des Trypan. pathogènes.

Des diminutions de la teneur du sang en complément hémolytique, au cours des trypanosomiasés, ont été notées par GOEBEL (9), par HARTOCH et YAKIMOFF (10), en complément bactériolytique par RODET et VALLET (11), en opsonines non spécifiques par HARTOCH et WILLIM (12).

Enfin, une réaction de l'ordre des précipitines a été obtenue par M. MAYER (13) en mélangeant le sérum d'un chien nagané avec un extrait de Trypan. digérés par la trypsine.; la réaction était spécifique.

(1) *Deutsch. Kolonialblatt*, n° 7, 4^{er} avril 1907.

(2) CITRON, *Deutsche mediz. Woch.*, 1907, n° 29; WEBER, *Zeitschr. f. experim. Path. u. Ther.*, t. IV, 1907; LEVI DELLA VIDA, *Ann. d'Ig. sperim.*, t. XVII, 1907; MANTEUFEL, *Arch. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, t. XXVIII, 1908; MANTEUFEL et WOITHE, *Ibid.*, t. XXIX (v. p. 473).

(3) *Wiener klin. Woch.*, 1907, n°s 46 et 50.

(4) *Bull. Soc. Path. exot.*, 1908, t. I, f. 3.

(5) *Wiener klin. Woch.*, 1908, n° 21.

(6) *Berl. mediz. Ges. in Berl. klin. Woch.*, 1908.

(7) *Deutsch. mediz. Woch.*, 1908.

(8) *Arch. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, t. XXIX, 1908.

(9) *Ann. Soc. Méd. Gand*, t. LXXXVI, 1906.

(10) *Wien. klin. Woch.*, t. XXI, 1908, n° 40.

(11) *Bull. Soc. Path. exot.*, t. I, 1908, f. 3.

(12) *Wiener klin. Woch.*, 1908, n° 41.

(13) *Zeitschr. f. experim. Path. u. Ther.*, t. I, 1905. V. aussi UHLENHUTH et WOITHE, *Arch. a. d. Kais. Gesundheitsamte*, t. XXIX, 1908.

Si nous avons cru devoir donner cet assez long historique avant nos recherches propres, c'est que les travaux antérieurs ont été, dans un certain nombre de mémoires récents, très incomplètement présentés.

Nos recherches ont porté sur l'étude de la propriété protectrice qu'acquiert le sérum des animaux trypanosomiés. Nous ne nous sommes préoccupés des autres propriétés possibles de ces sérums que pour rechercher si leur considération ne pouvait expliquer la première. L'étude de cette propriété protectrice fera l'objet de la 1^{re} partie de ce mémoire.

Au cours de nos expériences, et surtout par comparaison avec ce que nous savions des races résistantes aux médicaments, nous avons été amenés à rechercher s'il se constituait, chez les animaux fournisseurs des sérums protecteurs, des *racés* réfractaires à ces sérums. L'étude de ces races constituera la 2^e partie de notre mémoire(1). Chemin faisant, nous comparerons nos résultats, soit à ceux déjà obtenus sur les Trypanosomes et que nous venons de résumer, soit à ceux constatés sur d'autres protozoaires ou d'autres microbes.

Les principaux résultats que l'on trouvera ici ont été brièvement résumés dans une note présentée à la Société de Biologie le 12 juillet 1908.

Pour plusieurs de nos expériences, le D^r M. LEGER nous a apporté son meilleur concours.

PREMIÈRE PARTIE

Étude des sérums protecteurs.

I

TECHNIQUE

On sait que les sérums en question ne sont guère actifs qu'en mélange. Avec un sérum protecteur, à 1/20 de c. c., en mélange avec une dose déterminée de Trypan., il faut inoculer 1/2 ou

1. V. sur le même sujet : EHRLICH, *Münch mediz Wolch.*, 2 févr. 1909, p. 219.

1 c. c. pour empêcher l'infection d'une souris qui reçoit, en une région différente du corps, la même dose de Trypan. et encore éprouve-t-on quelques échecs.

Nous avons donc toujours employé nos sérums en mélange. Il est bon, quand ils proviennent d'animaux encore infectés, de ne s'en servir que 48 heures après la saignée. Autrement, on s'exposerait à des infections du fait des Trypan. de l'animal fournisseur de sérum. Le pouvoir des sérums (surtout des meilleurs) se maintient d'ailleurs presque intact pendant des mois en les conservant à la glacière et on peut, avec un même échantillon, faire toute une suite d'expériences parfaitement comparables.

On verse, dans des verres à pied stérilisés, les doses que l'on veut employer de sérum. On prépare, en même temps, une dilution, dans l'eau physiologique citratée, du sang d'une *souris* riche en Trypan., et on titre cette dilution de façon à ce qu'une goutte, examinée entre lame et lamelle à un grossissement de 350 D., montre une dizaine de Trypan. par champ (1). On met alors dans chaque verre contenant du sérum, en général 1/10 c. c. du liquide ainsi préparé (c'est notre dose-étalon), en ayant soin que le virus se mélange bien au sérum. On inocule ensuite chacun de ces mélanges sous la peau du dos des *souris*, le seul animal d'épreuve dont nous nous soyons servi.

L'opération dure toujours sensiblement le même temps; les Trypan. sont introduits dans le corps de l'animal après 2 à 4 min. de contact avec le sérum. Ce point est important à considérer, car le sérum est d'autant plus protecteur que le contact a été plus prolongé. Voici 2 expériences effectuées avec le sérum de la chèvre Surra (v. *infra*) qui le prouvent :

Le sérum de la saignée du 26-11-07, à 1/2 c. c., ne fait que retarder l'incubation de 5 jours, quand le contact est de 10 min.; il protège complètement quand le contact est de 15 et de 30 min. Le sérum de la saignée du 24-12-07 à 1/4 c. c., ne fait que retarder l'incubation de 1 j. 1/2 avec des contacts de 1 et de 5 min.; avec 10 min. de contact, la souris n'était pas encore infectée 5 jours après le témoin; avec 30 min., il n'y a jamais eu d'infection.

Lorsqu'un sérum est actif à une dose inférieure à 1/10 c. c.,

(1) Il est clair que les dilutions ne sont pas rigoureusement comparables au point de vue de la teneur en Trypan. En répétant les expériences qui comportent des comparaisons précises, on obvie à cette légère cause d'erreur.

on peut mesurer son activité limite soit en ajoutant, à la dose-étalon de Trypan., 1/10 c. c. de la dilution à 1/2, 1/5 ou 1/10 du sérum (ce qui fait 1/20, 1/50 ou 1/100 de sérum), soit en conservant la dose fixe de 1/10 c. c. de sérum et en lui ajoutant 2, 5, 10 doses-étalon de Trypan. L'expérience nous a montré que, par exemple, 1/50 c. c. sérum + 1/10 c. c. Trypan. se comporte sensiblement comme 1/10 sérum + 5/10 Trypan. Pour plus de commodité, nous avons généralement employé ces derniers mélanges.

Le résultat est le même que le mélange virus-sérum soit inoculé dans le péritoine ou sous la peau; sauf pour des besoins particuliers, nous avons préféré l'inoculation sous la peau du dos.

Les sérums d'animaux neufs, cobayes, lapins, chiens et chèvres, sont dépourvus d'activité; parfois même les souris inoculées sont infectées 24 heures avant celles qui n'ont reçu que la dose-étalon; *exceptionnellement*, les sérums neufs retardent l'incubation d'un petit nombre de jours.

II

ÉVOLUTION DU POUVOIR PROTECTEUR DU SÉRUM CHEZ NOS ANIMAUX FOURNISSEURS.

A. Chèvre Surra.

Cette chèvre a été inoculée le 7 mai 1907 avec 1 c. c. sang de cobaye renfermant de non rares Trypan. du Surra de Maurice. Poussée thermique régulière de 38° 2 (7 mai) à 39° 7 (18 mai). L'examen microscopique du sang, pratiqué du 10 au 20 mai, a été négatif. 2 souris inoculées dans le péritoine, chacune avec 1/4 c. c. (1), le 18 mai, meurent infectées les 29 mai et 1^{er} juin. Mais, à 2 autres reprises, le 18 juin et le 4 juillet, les souris inoculées ne s'infectent pas. Un chien, qui reçoit 25 c. c. le 24 août, s'infecte; un autre, inoculé à 2 reprises, le 10 octobre et le 15 novembre, ne s'infecte pas. L'infection de la chèvre a donc duré de 4 à 5 mois; elle a été légère.

Le sérum de cette chèvre, retiré en novembre (les 10 et 26), inoculé en mélange avec les Trypan. à la dose de 3/4, 1/2 et même (2^e saignée) 1/4 c. c., empêchait l'infection. Le sérum, en décembre, à la dose de 1/2 c. c., ne fait plus que retarder la période d'incubation.

■ Réinoculée le 12 mars 1908 avec le même Surra, résistant à l'atoxyl, la chèvre contracte une infection très légère: des souris ne sont pas infectées par le sang de la chèvre le 30 mars; 2 chiens, inoculés le 30 mars et le 18 mai, s'infectent; un autre, inoculé à 2 reprises, le 1^{er} août et le 16 novembre, ne

(1) Nos animaux d'épreuve sont toujours inoculés dans le péritoine, les souris avec 1/4 c. c., les cobayes avec 5 c. c., les chiens avec 20 à 30 c. c., généralement 25.

s'infecte pas. La réinfection de la chèvre a donc duré entre 2 et 4 mois.

Son sérum retiré le 12 juin est actif à $1/2$ et $1/10$ c. c. (retard de 4 jours à $1/4$); celui du 1^{er} août est actif à la dose de $1/10$ et peut-être même de $1/20$ c. c. Celui de la saignée du 18 novembre 1908 protège à $1/2$ c. c., mais ne fait que retarder l'incubation à $1/4$ c. c.

La chèvre est réinoculée le 18 novembre 1908 avec une race normale de Surra de Maurice. Elle paraît rester indemne, car son sang n'infecte pas un chien qui en reçoit 20 c. c. à la date du 2 décembre 1908.

B. Bouc et chèvre Nagana du Zouloulând.

Inoculés tous les deux le 19 novembre 1907, la chèvre a succombé le 10 janvier 1908 (après 52 jours), le bouc le 12-13 février 1908 (après 85 jours $1/2$).

Chez la Chèvre, nous n'avons jamais observé de Trypan. à l'examen microscopique, mais son sang a infecté les 2 souris inoculées le 30 novembre, les 2 du 16 décembre et 1 des 2 inoculées le 5 janvier 1908, au moment où elle est mourante. Pendant l'agonie de l'animal, qui dure 5 jours, nous ne voyons pas de Trypan. à l'examen microscopique, mais le sang infecte, en dehors de la souris du 5 janvier, un cobaye le 6 et un rat le 7.

Le sérum de cette chèvre, retiré le 10 décembre, protégeait à $3/4$ et $1/4$ c. c. contre le Trypan. homologue (à $1/2$ c. c., retard de 5 jours sur le témoin.) Le sérum du 6 janvier, retiré de la chèvre agonisante, était actif à $3/4$, $1/2$ et $1/4$ c. c. (il n'a pas été essayé à dose moindre).

Le Bouc n'a montré un Trypan. à l'examen microscopique que le 27 novembre et, pendant son agonie, le 12 février. Son sang s'est montré infectieux : pour les souris, le 30 novembre, le 16 décembre (longue incubation); pour le rat et le cobaye, le 6 janvier. Pendant son agonie, le 12 février 2 souris, 1 rat, 1 cobaye ont été rapidement infectés.

Le sérum du bouc, retiré le 10 décembre, était protecteur aux doses de $3/4$, $1/2$ et $1/4$ c. c.; celui du 6 janvier l'a été à $1/4$ et $1/10$ c. c.; celui du 26 janvier à $1/2$, $1/4$ et $1/10$ c. c.; il en a été de même enfin de celui du 12 février, retiré de l'animal agonisant. (Chacun de ces sérums n'a pas été essayé à doses moindres que celles indiquées.)

On voit donc ici le pouvoir protecteur du sérum apparaître moins d'un mois après l'inoculation du virus et se maintenir jusqu'à la mort, due manifestement à la trypanosomiase.

C. Bouc Nagana du Togoland (1).

Ce bouc a été inoculé le 26 novembre 1907. Son sang, à la dose de $1/4$ c. c., a infecté régulièrement les souris les 9 décembre 1907, 4 et 30 janvier, 9 mars 1908; il ne les a plus infectés le 6 avril; en revanche, un cobaye a été infecté à cette date avec 5 c. c. Le 11 mai, 2 cobayes, le 28 juillet, un chien, inoculés, ne s'infectent pas. L'infection du bouc, nettement caractérisée, a donc duré

₁ (1) Virus du docteur C. SCHILLING.

environ 5 mois. Deux réinoculations, tentées le 31 juillet et le 18 novembre 1908, n'ont pas amené de résultats.

Le sérum de ce bouc, saigné à maintes reprises, a donné, vis-à-vis du Trypan. homologue, gardé par passages par souris, les résultats suivants :

Saignée du 16 décembre 1907 : action nulle à $3/4$, $1/2$, $1/4$ c. c.

Saignée du 4 janvier 1908 : protège complètement à $3/4$, $1/2$, $1/4$ c. c. Non essayé à dose moindre.

Saignée du 30 janvier 1908 : protège complètement à $3/4$, $1/2$, $1/4$, $1/10$ c. c. Non essayé à dose moindre.

Saignée du 9 mars 1908 : protège complètement à $1/2$, $1/4$, $1/10$ (encore actif à $1/10$ 3 mois plus tard, à $1/4$, 8 mois plus tard.)

Saignée du 6 avril 1908 : protège complètement à $1/2$, $1/4$, $1/10$, et $1/20$ (encore actif à $1/10$ plus de 3 mois après.)

Saignée du 11 mai 1908 : protège complètement jusqu'à $1/25$ c. c.

Saignée du 12 juin 1908 : protège complètement jusqu'à $1/25$ c. c.

Saignée du 28 juillet 1908 : protège complètement à $1/20$ c. c.

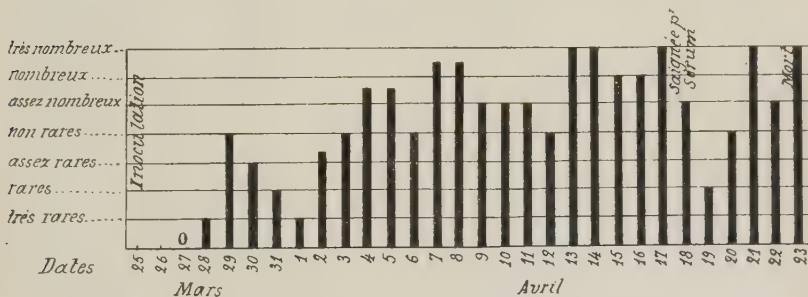
Saignée du 18 novembre 1908 : protège complètement à $1/4$ c. c. et parfois à $1/10$ c. c.

Saignée du 25 janvier 1909 : protège complètement à $1/10$ c. c.

On voit donc la propriété protectrice du sérum apparaître environ un mois après l'inoculation, par conséquent plus tard que chez le bouc et la chèvre précédents, se conserver pendant tout le cours de l'infection, persister à un taux à peu près fixe, trois mois au moins après la guérison, puis baisser.

D. Chien Nagana du Togoland.

Ce chien, inoculé le 25 mars 1908, est mort le 23 avril, soit en 29 jours. Comme le montre le tableau ci-joint, l'infection de



ce chien a été toujours intense et il n'a jamais montré de crise véritable. Dans l'attente de cette crise, nous n'avons saigné l'animal que tardivement (24 jours après l'inoculation) et précisément la veille d'une demi-crise (que d'ailleurs la saignée a pu contribuer à provoquer).

Ce sérum était actif à $1/2$, $1/4$ et $1/10$ c. c. sur le virus de passage par souris. Il l'était encore à $1/10$, 2 mois plus tard ; à $1/5$ et probablement même à $1/10$ après 4 mois de conservation à la glacière.

Les résultats obtenus avec ce chien nous paraissent particulièrement intéressants. Malgré une infection intense qui a déterminé une maladie à marche subaiguë, malgré l'absence de crise véritable, le sérum s'est montré à peu près aussi actif que celui du bouc précédent, qui a guéri d'une infection relativement légère.

E. Chiens Surra.

Un chien, saigné 20 jours après son inoculation, alors qu'il n'avait encore présenté aucune crise, est actif à 1/10 c. c.

De 2 autres chiens, inoculés le même jour, l'un avait un sérum actif à 1/10 c. c. 8 jours après (jour d'une crise); le sérum de l'autre, qui n'était pas encore en crise, était inactif à 3/4 c. c. Le sérum du 1^{er} chien, saigné à nouveau le 23^e jour, au moment de la seconde crise, était encore actif à 1/10 c. c.

F. Cobaye Surra.

Le sérum d'un cobaye, infecté de Surra depuis 42 jours, était actif à la dose de 1/4 c. c. (et peut-être même de 1/10).

* * *

La 1^{re} conclusion à tirer de tous ces faits, c'est l'apparition constante et même précoce du pouvoir protecteur du sérum au cours de l'infection des animaux. Il y a donc là une généralisation des plus nettes des faits semblables déjà acquis en matière de Trypanosomiasés et que nous avons résumés dans la partie historique.

Sans sortir du domaine des Protozoaires, une première comparaison s'impose avec ce qu'on connaît de la piroplasmose canine. NOCARD et MOTAS (1) ont établi que le sang des chiens regardés comme guéris de piroplasmose empêche, en mélange avec le virus, l'infection de se produire; si les chiens sont hyperimmunisés par des injections répétées de virus, leur sérum agit à dose beaucoup plus faible et même quand il n'est pas employé en mélange avec le virus. THEILER (2) a confirmé ces faits et il a reconnu de plus que le sang des chiens guéris et même hyperimmunisés restait encore virulent (c'est d'ailleurs la règle dans les piroplasmoses). Le cas est donc à rapprocher de ceux que nous venons de signaler : dans les 2 cas, il y a coexistence de virus et de substances

(1) *Ann. Inst. Pasteur*, t. XVI, 1902.

(2) *Centralbl. f. Bakter.* I, t. XXXVII, 1904.

protectrices; mais avec la piroplasmose, il y a guérison et immunité (*immunitas non sterilisans*, suivant l'expression d'EHRlich), tandis que, dans les Trypanosomiasés, l'infection continue à évoluer : tantôt vers la mort (cas des cobayes, des chiens, de 2 de nos caprins), tantôt vers la guérison. Quel que soit le résultat final, mort ou guérison, le sérum est aussi actif dans un cas que dans l'autre. Et on peut même noter que l'animal qui a eu le sérum le moins actif, la chèvre Surra, est celui qui a été le moins infecté.

Par conséquent, ni l'existence ni le degré du pouvoir protecteur du sérum ne permettent un pronostic favorable. Bien plus, lorsque la guérison s'établit, on voit le pouvoir protecteur du sérum baisser. Ce pouvoir apparaît comme le résultat d'une réaction de l'organisme contre le parasite; le premier n'en profite pas probablement parce que, comme nous le verrons plus loin, le parasite se vaccine constamment contre les substances fabriquées par l'organisme pour lutter contre lui.

Dans le monde des bactéries pathogènes, on trouve aussi des faits analogues. Ainsi, nous voyons des agglutinines et des sensibilisatrices apparaître dans le sang des typhiques. Nous nous bornerons à cet exemple unique.

III

ACTION DES SÉRUMS PROTECTEURS SUR LES TRYPANOSOMES HÉTÉROLOGUES

I. — Le sérum de la chèvre Surra qui n'a jamais reçu que du virus de l'île Maurice, protège contre le Surra d'origine indienne, exactement de même que contre le Surra de Maurice. Preuve nouvelle et superflue de l'identité des deux virus.

II. — Le sérum du bouc Nagana Togo, même alors qu'il avait son activité maxima sur le Trypan. homologue, s'est toujours montré inactif sur le *Trypanosoma brucei* type.

Le sérum de la chèvre Nagana type, celui du bouc Nagana, de trois saignées différentes, se sont montrés inactifs à n'importe quelle dose sur le virus du Togo (1).

(1) A la vérité, nous avons enregistré un résultat positif aux doses de $3/4$, $1/2$ et $1/4$ c. c.; mais, ayant eu le sentiment, au moment même de l'inoculation des souris, d'une erreur probable de sérum, nous avons fait, séance tenante, une autre souris avec la même dilution de virus et $3/4$ c. c. de sérum; l'action a été nulle. Une semaine plus tard, le même sérum s'est encore montré sans action. Nous sommes donc persuadés que nous avons commis une erreur de sérum.

Ces expériences croisées confirment les faits que nous avons rappelés dans notre historique. Il est donc probable que les deux virus du Togoland et du Zouloulound, désignés sous le même nom de Nagana, constituent deux espèces distinctes. Nous donnerons à celui du Togo le nom de *Trypanosoma togolense*, réservant le nom de *T. brucei* au virus découvert par Bruce au Zouloulound.

III. — Le sérum du bouc Togo s'est montré généralement inactif, ou a donné (à la dose de $3/4$ et $1/2$ c. c.) de faibles retards vis-à-vis du Trypan. de Maurice; une fois, il s'est montré protecteur à la dose de $3/4$ c. c.; dans une autre expérience, $1/2$ c. c. a protégé une souris et a donné un retard de 4 jours dans l'incubation à une seconde.

Le sérum de la chèvre Surra, bien qu'il n'ait jamais montré un pouvoir protecteur très élevé vis-à-vis du Trypan. homologue, a manifesté une certaine activité vis-à-vis du Trypan. du Togo, se montrant par exemple protecteur à $1/4$ c. c.; il est vrai de dire que le même sérum, protecteur à $1/4$ c. c. dans une expérience, ne donnait plus qu'un retard de 2 jours dans une autre.

Ces expériences croisées semblent indiquer, non une identité des deux virus, mais une certaine parenté. Le virus du Togo nous paraît plus voisin du Surra que du Nagana.

IV. — Entre Surra et Nagana type, nous avons fait peu d'essais. Dans plusieurs expériences, le sérum du bouc Nagana s'est montré inactif à la dose de $3/4$ c. c. contre le Surra.

V. — *Trypan. pecaui*, possédant des formes longues qui ressemblent au *Trypan. togolense*, nous avons fait agir notre sérum Togo sur ce virus. L'action a été nulle, aussi bien sur les formes longues que sur les formes courtes (1).

VI. — Sur le Trypan. de la Mbori, rapporté par BOUFFARD de Bakel et provenant de la rive droite du Sénégal, les sérums Togo et Nagana sont sans action.

En rapprochant ces faits de ceux déjà établis dans le même ordre l'idées, surtout par LAVERAN et MESNIL, il nous semble qu'on a le droit d'accorder une certaine valeur à cette méthode de sérodiagnostic, ou mieux de sérodifférenciation des Trypanosomes pathogènes, et de lui donner une place à côté de la méthode par l'immunisation active croisée, qui doit toujours conserver le

(1) LAVERAN (Ann. Inst. Pasteur, t. XXI, 1907, p. 347) a vu que le sérum d'une chèvre Surra, actif sur *T. evansi*, ne l'était pas sur *T. pecaui*.

premier rang. L'exemple suivant illustre bien l'intérêt de cette sérodifférenciation :

M. EHRLICH nous envoie, en mai 1908, une souris infectée d'une race résistante à l'émétique, en échange de notre race de Surra résistante. Son virus, qu'il possède depuis de longues années, lui a été envoyé comme du Nagana. Or l'infection par ce virus est empêchée par 1/2 c. c. de sérum du bouc Nagana; le sérum de la chèvre Surra et du bouc Togo sont sensiblement sans action. Il y a donc vérification que le virus est bien du Nagana.

IV

ACTION DE LA CHALEUR SUR LE POUVOIR PROTECTEUR

Le sérum des caprins chauffé 1/2 heure ou 3/4 d'heure à 56-58°, ou même à 65° (cette expérience était nécessaire du fait que certains sérums de caprins n'ont leur alexine détruite qu'au delà de 60°), conserve toute sa valeur protectrice.

Par exemple, le sérum du bouc Togo, retiré le 6 avril 1908, protégeait, à 1/10 c. c., chauffé à 56° ou à 65°, contre une dose de Trypan. Contre deux doses et demie, le chauffé à 56° donnait. 2 jours de retard, le non chauffé 4 jours. Contre cinq doses, l'un et l'autre sérum donnaient 1 jour de retard.

Le sérum de la chèvre Surra, bien que peu actif, ne perdait rien de son activité par chauffage à 56°. Ce sérum chauffé s'est même montré, dans certaines expériences, plus actif que le sérum non chauffé.

Le sérum du chien Togo, chauffé à 56°, protège à 1/10 c. c. comme le non chauffé.

Le sérum du chien Surra, prélevé au moment de la 1^{re} crise, s'est comporté un peu différemment. Actif à 1/10 c. c. non chauffé, chauffé il donnait 4 jours de retard à 1/10 c. c., 10 jours à 1/4 c. c. et ne protégeait complètement qu'à 1/2 c. c.

V

PROPRIÉTÉS FIXATRICES DES SUBSTANCES PROTECTRICES

Le sang à Trypan. est mélangé au sérum à raison de 1/2 ou 1 c. c. (suivant la force de celui-ci) pour 2 c. c. 5 ou 2 c. c. de sérum. On centrifuge une première fois. Le liquide surnageant est

enlevé, remplacé par de l'eau physiologique. On agite et on centrifuge une seconde fois. Avec le sérum du bouc Togo, nous avons même fait un nouveau lavage et une 3^e centrifugation. Cette dernière opération était d'ailleurs superflue, étant donné les titres de nos sérums. En effet, après une 2^e centrifugation, il reste en contact avec les Trypan. une quantité de sérum comprise entre 1/50 et 1/100 c. c., qui est déjà incapable de protéger contre notre dose-étalon de Trypan. et, à *fortiori*, contre la totalité ou la moitié du culot, dose plus élevée.

L'ensemble des opérations dure environ 1/2 heure, temps qui, par lui-même, n'agit pas sur la vitalité des Trypan. Des expériences de contrôle ont été faites en se servant de sérums neufs. On a pris aussi des Trypan. du même sang dilué que celui qui a servi pour les centrifugations et conservé dans le laboratoire.

Les culots, ayant été en contact avec les sérums actifs, n'ont pas infecté les souris ou bien les ont infectés avec retards marqués sur les témoins inoculés soit avec culots ayant été en contact avec les sérums neufs, soit avec Trypan. conservés au laboratoire pendant le temps des opérations. Le liquide surnageant de la 1^{re} centrifugation (formé en grande partie de sérum) n'avait conservé qu'une partie du pouvoir protecteur initial du sérum. La substance active du sérum paraît donc se fixer en partie sur les Trypan., une autre partie restant dans le liquide. Nous aurions peut-être obtenu une fixation plus complète si nous avions pu prolonger suffisamment le temps de contact des Trypan. avec le sérum, avant la centrifugation. Mais, nous ne l'avons pas fait en raison de la fragilité des Trypan. *in vitro*. On sait, d'ailleurs, que, même dans le cas des bactéries, il n'y a jamais fixation complète de la sensibilisatrice sur le corps des microbes, malgré un contact de plusieurs heures.

Ces expériences ont été réalisées avec le sérum de la chèvre Surra (saignées de novembre 1907, sérum peu actif), du bouc Togo et du chien Togo (relativement actifs).

Au point de vue des expériences de fixation, les sérums chauffés se sont comportés comme les sérums correspondants non chauffés. Les souris, protégées par un mélange virus-sérum, n'ont acquis de ce fait aucune immunité. Celles qui ont reçu des culots de centrifugation, sont également sensibles au virus, mais il y a parfois un retard dans l'incubation.

La différence de nos sérums et du sérum humain, également protecteur contre les Trypan., est ici des plus nettes. Les substances protectrices du sérum humain ne se fixent pas sur les Trypanosomes.

VI

ACTION *in vitro* DES SÉRUMS SUR LES TRYPANOSOMES

Dans les expériences que nous venons de décrire, nous avons eu soin d'examiner l'état des Trypan. au moment où nous les injections à l'animal; nous pouvons résumer nos observations d'un mot : toujours les Trypan. nous ont montré une vitalité aussi grande que ceux gardés au contact des sérums inactifs. Nous avons constaté en particulier qu'ils supportaient très bien les diverses opérations de la centrifugation et des lavages.

Mais il était possible que les sérums actifs imprimassent aux Trypan. une altération visible seulement au bout d'un temps plus long. Nous avons mis des Trypan. en contact, à la température du laboratoire (18°) ou à 37°, avec des sérums actifs et, comme contrôle, avec des sérums inactifs, ou bien simplement dans l'eau citratée de leur dilution.

Les Trypan. meurent au bout de temps variables. Dans un grand nombre d'essais, en particulier avec nos sérums de caprins, nous n'avons observé aucune action microbicide spéciale des sérums actifs qui se comportent comme les sérums neufs, c'est-à-dire que les Trypan. s'y conservent plus longtemps vivants que dans l'eau citratée qui sert à diluer le sang qui les contient; c'est d'ailleurs un phénomène connu. La conservation est encore plus longue quand on emploie des sérums chauffés, qui pourtant sont aussi actifs qu'avant le chauffage.

Il nous paraît donc hors de conteste que le pouvoir protecteur de nos sérums n'est pas dû à une action trypanolytique. Certes, nous ne nions pas l'existence d'une pareille propriété chez certains sérums et l'un de nous, en collaboration de M. LEGER, a eu l'occasion, dans des recherches encore inédites, de la vérifier pour ce qui regarde les sérums de crise chez les cobayes. Mais ce que nous pouvons affirmer dès maintenant, c'est que les 2 propriétés, quand elles coexistent, sont indépendantes.

Comme nos expériences de protection sont faites chez la sou-

ris, on pouvait se demander si une propriété trypanolytique de notre sérum n'apparaît pas à la faveur du complément de souris. Une expérience, faite à 37°, dans laquelle le virus Togo, à la dose de 3 gouttes, était mis en contact avec des doses variables de 0,01 c. c. à 0,5 c. c. de sérum actif du bouc et quelques gouttes de sérum de souris, n'a pas permis de mettre en évidence quelque trace de cette action trypanolytique.

Le pouvoir agglutinant de nos sérums nous a paru très inconstant et jamais bien marqué; il existe aussi pour certains sérums neufs et il est manifeste que cette agglutination n'est nullement en rapport avec le pouvoir protecteur. Le sérum *anti-lewisi* reste jusqu'ici le seul pour lequel l'agglutination soit caractéristique; mais, même dans ce cas, LAVERAN et MESNIL ont établi l'indépendance du pouvoir agglutinant et du pouvoir préventif.

VII

ACTION *in vivo* DES SÉRUMS

Nous avons vu que les mélanges virus-sérum se comportent de la même façon qu'on les inocule dans le péritoine ou sous la peau. Nous avons donc fait nos expériences sur le mode d'action des sérums dans le péritoine. Elles ont toutes été faites avec le sérum du bouc Togo (saignée du 12-6-08) dont nous connaissions le titre (v. page 137) et nous avons employé un mélange de 0,20 ou 0,25 c. c. de sérum avec 0,4 à 0,5 c. c. de sang dilué, c'est-à-dire un mélange qui protège à la limite et qui peut même amener une infection après un long retard. Les souris étaient ponctionnées à des temps variables entre quelques minutes et 1 heure 1/2, le liquide de ponction examiné, à l'état frais en gouttes pendantes ou entre lame et lamelle, et en frottis fixés à l'alcool et colorés au Giemsa.

Au bout d'une demi-heure environ, il n'existe plus un seul Trypan. libre dans le péritoine. Durant ce temps, on voit leur nombre décroître peu à peu, mais jamais on n'aperçoit un Trypan. altéré dans sa forme, son aspect ou sa mobilité. Généralement isolés, les Trypan. sont parfois unis en rosace (agglutination comme *in vitro*). (Chez les souris témoins, les Trypan. persistent dans le péritoine, libres et mobiles.)

Les leucocytes se montrent bientôt très nombreux dans l'exsudat, souvent agglomérés en paquets, et on est frappé de voir des Trypan. bien mobiles adhérer par une de leurs extrémités, plus rarement par le milieu de leur corps, à ces leucocytes. Ces figures ont rappelé à l'un de nous ce qu'il avait observé, en étudiant, avec M. LAVERAN, l'action *in vivo* du sérum *anti-leixisi*. Au bout de quelque temps, les leucocytes s'adaptent à la température du laboratoire; ils émettent des pseudopodes et nous avons pu assister à l'englobement des Trypanosomes.

Sur les préparations colorées, on trouve les Trypan. libres, en parfait état, même quand ils sont piqués à la surface des leucocytes. Dans ces leucocytes, pour la plupart des mononucléaires, on observe des Trypan. à tous les stades de la digestion. Les figures de la planche IX rendent compte, mieux qu'une longue description, de tout le processus. Commencée de 7 à 10 minutes après l'inoculation, la phagocytose atteint son maximum entre la 10^e et la 30^e minute; à ce moment, la moitié des leucocytes de l'exsudat renferment un nombre plus ou moins grand de parasites en voie de digestion et des amas tels que celui de la figure 9 sont extrêmement communs dans les frottis. Après une 1/2 heure, on voit la digestion continuer et s'achever. Au bout d'une heure, le nombre des leucocytes avec inclusions chromatiques provenant des Trypan. digérés, a beaucoup diminué; ces inclusions sont d'ailleurs très réduites chez les phagocytes qui en renferment encore. Des recherches, portant sur le mésentère, la rate, le sang de souris sacrifiées au bout de ce temps, nous ont prouvé que la destruction des Trypan. est localisée dans le péritoine.

Le tableau rappelle de près ce que LAVERAN et MESNIL ont décrit dans le cas du *T. lewisi* (1) : l'englobement est plus rapide et on en saisit plus facilement toutes les phases; on rencontre aussi dans les préparations, avec une facilité autrement grande, les divers stades de la digestion intracellulaire.

VIII

MÉCANISME D'ACTION DU SÉRUM ET NATURE DE LA SUBSTANCE PROTECTRICE

Nos observations *in vitro* et *in vivo* concordent pour montrer

(1) Ou encore ce que LEVADITI et SEVIN (*C. R. Soc. Biologie*, t. LVIII, avril 1905) ont constaté pour le *T. padoae* inoculé à des animaux ayant l'immunité naturelle.

que les sérums n'ont aucune action directe sur les Trypan. Ces Trypan. sont englobés à l'état parfaitement mobile et ayant gardé tous leurs caractères morphologiques.

Quel est donc le mode d'action des sérums? Remarquons que : 1° ils n'agissent guère qu'en mélange; 2° toutes choses égales d'ailleurs, ces mélanges sont d'autant plus protecteurs que le contact entre le virus et le sérum a été plus prolongé (nous n'avons jamais dépassé un contact d'une demi-heure, qui n'est pas nocif pour la vitalité des Trypan.); 3° les Trypan. mis en contact avec du sérum, puis centrifugés et lavés, peuvent perdre ainsi leur virulence. Il nous paraît probable que les substances protectrices des sérums, en se fixant sur les Trypanosomes, les rendent phagocytiques. Dans ce mécanisme, l'animal inoculé intervient entre autres en ce que ses leucocytes sont plus ou moins aptes, par exemple suivant l'espèce considérée, à jouer leur rôle de phagocytes. Par sa résistance au chauffage à 56°, par son pouvoir de fixation, la substance protectrice paraît être de même nature que celle des sérums antibactériens, des anticorps en général, c'est-à-dire être composée d'une alexine et d'une sensibilisatrice. Mais nous n'avons pu mettre nettement en évidence cette sensibilisatrice dans le sérum de notre bouc de Togo par la méthode de la déviation du complément en prenant pour antigène une concentration de Trypan. du sang de rat, bien que, avec l'obligeant concours de M. LEVADITI, nous nous soyons placés dans les meilleures conditions. Un premier essai (saignée d'avril 1908) ne nous a révélé qu'une supériorité insignifiante de notre sérum sur un sérum normal. Dans un deuxième essai (saignée de janvier 1909), le sérum du bouc empêchait complètement l'hémolyse à la dose de 0 c. c. 2 (pour 0 c. c. 4 d'émulsion de poudre de Trypan.); à la même dose, le sérum normal n'avait qu'une action inhibitrice incomplète. Rappelons que tous ceux qui ont cherché à réaliser cette expérience avec les Trypan. ont eu jusqu'ici des résultats généralement nuls ou extrêmement inconstants.

Par leur mode d'action, les sérums dont il est question ici diffèrent notablement d'autres substances, préventives elles aussi contre les infections à Trypanosomes, par exemple le sérum humain et l'atoxyl. Cette différence apparaît nettement quand on inocule les mélanges dans le péritoine.

Dans le cas du sérum spécifique protecteur, on a une destruction intrapéritonéale rapide, phagocytaire; il n'y a pas destruction extracellulaire.

Avec le sérum humain, MESNIL et LEGER (expériences inédites) ont observé une action extracellulaire comparable à celle que l'on observe quand on fait agir le même sérum à titre curatif.

Avec l'atoxyl, il n'y a, dans le péritoine, destruction ni extracellulaire ni intracellulaire; l'infection est pourtant évitée; les Trypan. doivent être détruits dans la circulation par la toxalbumine arsénisée de LEVADITI, élaborée par le foie.

DEUXIEME PARTIE

Races résistantes aux sérums.

Nous ne nous sommes préoccupés qu'un peu tardivement de l'obtention de ces races.

Nous avons d'abord éprouvé un échec avec une race retirée du bouc Nagana. Mais il faut dire qu'avant que nous n'éprouvions sa sensibilité au sérum, un mois s'était écoulé : la race avait passé par un rat, puis par 2 souris et nous ne l'avions retirée de la 2^e souris qu'après une rechute à la suite d'un traitement par l'émétique.

I

RACE RETIRÉE DU BOUC TOGO

Nous avons été plus heureux avec le virus du bouc Togo. Deux souris inoculées chacune avec 1/4 c. c. le 9-3-08 se sont infectées; les Trypan. de l'une d'elles nous ont donné un virus que nous avons conservé pendant 2 mois 1/2 par passages sur 19 souris successives. Nous avons essayé, presque à chaque pas-

sage, sa sensibilité au sérum du bouc saigné également le 9-3. (Bien entendu, jamais les virus ainsi remis en contact avec le sérum du bouc, ne servaient pour les passages). A partir du 7^e passage, nous avons essayé aussi la sensibilité de ce virus (nous l'appellerons B; le chiffre placé à la suite de B indique le n^o du passage par souris) au sérum de ce même bouc saigné un mois plus tard, le 6-4-08.

Sérum du 9-3-08. Le sérum est essayé aux doses de $3/4$, $1/2$, $1/4$ c. c. sur les virus B₂ à B₇ : il donne un retard nul ou insignifiant (1 jour) dans l'incubation. A la dose de $3/4$ c. c., il donne un retard de 6 jours avec B₈. Il est inactif ou donne un léger retard (1-2 jours) à $3/4$ ou $1/2$ c. c. avec B₉₋₁₂. A $1/2$ c. c., il donne un retard de 10 jours sur B₁₄, de 3 jours sur B₁₅. A $1/4$ c. c., il donne un retard de 2 jours $1/2$ sur B₁₇. Enfin il est actif à $1/4$ c. c. sur B₁₉.

Sérum du 6-4-08. Nous l'essayons d'abord à la dose de $3/4$ c. c. sur B₇. Constatant son activité, nous employons des doses plus faibles et nous arrivons, en opérant sur B₁₂, à reconnaître qu'il est aussi actif vis-à-vis de cette race que vis-à-vis du Trypan. de passage par souris. Mais, avec B₁₄ et B₁₅, il n'est plus actif à $1/10$ c. c. (1 jour, 6 jours de retard seulement) et, avec B₁₉, $1/4$ c. c. ne donne qu'un retard de 8 jours.

Un essai fait avec le sérum de la saignée du 30-1-08 le montre inactif à $1/2$ c. c. sur notre race; un autre essai avec le sérum du 11-5-08 le montre légèrement actif à $1/10$ c. c. (6 jours de retard.)

En résumé, la vaccination du Trypan. du bouc vis-à-vis du sérum « homochrome » de cet animal s'est conservée héréditaire, sans qu'il y ait nouveau contact avec le sérum, pendant un assez grand nombre de passages de ce virus par souris. Au 8^e passage, cette vaccination a paru fléchir; ce fléchissement n'a reparu qu'au 14^e passage; au 19^e, la vaccination paraît perdue.

La race, vaccinée contre les substances qui existaient en même temps qu'elle ou avant elle dans l'organisme du bouc, ne l'est plus contre celles qui sans doute continuent à se former après qu'elle a été extraite du bouc. Du 7^e au 12^e passage de notre race par souris, le sérum du 6-4-08 se montre aussi actif vis-à-vis d'elle que vis-à-vis des Trypan. de souris qui n'ont pas passé sur le bouc. Fait assez étrange, à partir du 14^e passage, alors que la vaccination fléchit vis-à-vis du sérum homochrome, elle se manifeste un peu vis-à-vis du sérum hétérochrone, à tel point qu'au 19^e passage, le 1^{er} protège à $1/4$ c. c. alors que le second ne protège

pas. Par rapport au sérum du 11-5-08, la race est sensible, mais moins que la race normale par souris.

Un autre essai pour extraire de notre bouc une race résistante le 6-4-08 a échoué : après 1 passage par cobaye et 2 par souris, cette lignée avait la sensibilité normale aux sérums retirés du bouc l'un en même temps, l'autre un mois avant.

I

RACE RETIRÉE DU CHIEN TOGO.

Le jour de la mort de notre chien, nous avons fait agir sur ses Trypan. le sérum du même chien retiré 5 jours avant. Il s'est montré inactif. Nous l'avons fait agir depuis, à diverses reprises, chauffé ou non, sur ces Trypan. du chien (C) conservés par passages sur souris. Ces essais faits aux 2^e, 3^e, 6^e et 19^e passages, à la dose de $3/4$ ou $1/2$ c. c., ont donné le même résultat que le premier : inactivité du sérum vis-à-vis de la race.

Dans ce cas encore, nous avons obtenu une race vaccinée contre le sérum de chien et sa vaccination persistait au 19^e passage par souris quand nous l'avons abandonnée.

Chez deux autres chiens, infectés de Surra, nous avons constaté que les sérums étaient inactifs vis-à-vis des Trypan. pris chez les mêmes animaux quelques jours plus tard.

III

VACCINATION CROISÉE DES 2 RACES POUR LES SÉRUMS DE BOUC ET DE CHIEN.

En possession de nos 2 races B et C, respectivement résistantes aux sérums de bouc et de chien, nous avons eu l'idée de rechercher si la première n'avait pas aussi une certaine résistance au sérum de chien, la seconde au sérum de bouc. Les essais faits dans cette direction nous ont donné les résultats suivants :

Le sérum de chien ne protège pas complètement à la dose de $1/4$ c. c. (retard 14 jours) contre B₁₁; il protégeait à $1/4$ et $1/10$ c. c. contre B₁₉, ce

qui n'a rien d'étonnant, puisque nous avons vu que B₁₉ avait perdu sa vaccination.

Le sérum du bouc du 9-3-08 n'a pas protégé complètement à 1/4 c. c. (retard 9 jours) contre B₁₁. Celui du 6-4-08 n'a pas protégé à 1/10 c. c. contre C₁ (retard 3 jours 1/2), à 1/5 et 1/10 c. c. contre C₃ (retard 4 jours et 2 jours), à 1/5 et 1/10 c. c. contre C₅ (retard 2 jours 1/2, 2 jours), à 1/10 contre C₆ (retard 3 jours). Pendant tout ce temps et longtemps encore après, le sérum en question protégeait à 1/10 c. c. contre les Trypan. normaux de passage par souris. — Enfin, le sérum du 11-5-08 n'a pas protégé à 1/10 c. c. contre C₆ (retard 3 jours).

Il résulte de ces faits que les Trypan., en vivant dans un organisme d'espèce déterminée, peuvent acquérir une certaine vaccination vis-à-vis du sérum de cet organisme, qui est la somme d'une vaccination contre les substances propres à l'espèce animale et celles plus spécialement dirigées contre les Trypan. et que l'on trouve également chez 2 espèces telles que la chèvre et le chien.

Une autre conséquence, d'ordre pratique, à tirer, c'est que lorsqu'on veut apprécier le pouvoir protecteur d'un sérum, il ne faut pas se servir de n'importe quel virus, que, en particulier, pour les virus de laboratoire qui déterminent généralement une maladie à marche aiguë, chez le rat et la souris, il faudra se servir des virus conservés sur ces animaux.

IV

CONSIDÉRATIONS GÉNÉRALES

On connaît un grand nombre d'exemples de vaccinations de microbes contre les substances des humeurs des organismes supérieurs (1). On arrive par exemple : *in vitro* à vacciner un microbe contre les propriétés bactéricides ou agglutinantes d'un sérum. La comparaison avec les cas que nous faisons connaître est encore plus nette, dans la résistance manifestée par un microbe contre les propriétés du sérum de l'organisme dans lequel il vit ; ainsi les bacilles extraits d'un typhique ne sont pas agglutinables par son sérum. Cette adaptation, ou « animalisation », pour employer l'expression de BAIL, est tantôt lente (par ex. exaltation de virulence par passages sur une espèce animale donnée), tantôt rapide

(1) Voir l'excellente revue de EISENBERG, *Centralbl. f. Bakter.*, I, t. XLV, 1907.

(ex : action des exsudats péritonéaux mise en évidence par BAIL). Dans le domaine des Trypanosomes, nous avons vu que les individus qui, chez un cobaye ou un chien, survivent à la crise, sont résistants aux sérums de crise (MASSAGLIA, RODET et VALLET). Dans le domaine voisin des spirilles du sang, LEVADITI et ROCHÉ (1) avaient mis en évidence, déjà auparavant, une résistance acquise de même ordre.

De ce que, dans le sang d'un animal, coexistent le parasite et les substances protectrices, on ne saurait conclure *a priori* qu'il y a résistance du parasite à ces produits nocifs pour lui. Ainsi, dans l'expérience de THEILER sur la piroplasmose canine que nous avons déjà citée, nous voyons le sérum du chien capable de protéger contre ses propres piroplasmes. En tout cas, il est certain que cette résistance n'est pas toujours héréditaire. Ainsi, KLEINE et MÖLLERS ont reconnu que les Trypanosomes, retirés de leurs ânes à sérum relativement actif, étaient sensibles à ce sérum. Nous avons vu que les Trypan. retirés de caprins n'étaient pas toujours résistants aux sérums correspondants ou au moins que cette résistance disparaissait rapidement. A ce point de vue, il y a parallélisme avec ce que nous savons de l'obtention de races résistantes aux médicaments (1); de ce qu'un Trypan. devient résistant à l'injection d'un médicament dans un organisme donné, il ne s'ensuit pas nécessairement qu'il y a création d'une race résistante. EHRLICH et BROWNING ne nous paraissent pas complètement fondés à comparer les Trypan. de réinfection du singe de FRANKE (v. l'historique) à leurs races résistantes aux médicaments, car FRANKE n'a pas démontré qu'il y avait création d'une nouvelle race, conservant héréditairement ses propriétés en l'absence de la cause agissante. En revanche, cette démonstration a été fournie pour les spirilles de la *tick fever* par LEVADITI et ROCHÉ qui ont vu que l'immunisation des spirilles de récidence contre les propriétés microbicides du sérum de crise, se conserve après 3 passages par souris ou 2 par rat; ces spirilles de récidence avaient perdu le pouvoir de fixer *in vitro* les anticorps spécifiques. Pour la 1^{re} fois en ce qui concerne les Trypanosomes, nous montrons que l'immunisation contre les substances des sérums peut se conserver héréditairement pendant un grand nombre de générations. Ainsi se trouve établie sur des bases solides, un

(1) MESNIL et BRIMONT, ces *Annales*, t. XXII, 25 novembre 1908.

rapprochement avec les races résistantes aux médicaments. En ce qui concerne ces dernières, nous avons reconnu que l'émétique a perdu, vis-à-vis de la race résistante, le pouvoir préventif qu'il avait vis-à-vis de la race normale. Mais la comparaison avec les races réfractaires aux sérums ne peut être poursuivie plus loin, étant donnée la différence d'action de l'émétique et des sérums protecteurs.

Il serait intéressant de savoir si les races résistantes aux sérums conservent aussi longtemps, en dehors de tout contact avec les sérums, leurs propriétés que celles résistantes aux médicaments. Le cas de notre race bouc qui, au 19^e passage par souris, avait perdu sa résistance, peut laisser supposer que la vaccination disparaît assez vite. C'est la même impression que l'on retire des nombreuses expériences portant sur la vaccination des bactéries. Par exemple : les races non agglutinables extraites des typhiques acquièrent très vite, en tubes de culture, la propriété d'être agglutinées.

Nous avons dit que la question des vaccinations des microbes est liée intimement à celle de la virulence. En général, quand on fait des passages par une espèce animale donnée, on exalte la virulence pour cette espèce et surtout pour elle. La comparaison apparaît donc avec nos races qui ne sont guère immunisées que contre le sérum de l'espèce animale dont ils proviennent.

CONCLUSIONS

1. — 1 et 2. — Le sérum des animaux atteints d'une trypanosomiase à marche subaiguë, et surtout chronique, acquiert *très vite* des propriétés protectrices particulières : ce sérum, mélangé aux Trypanosomes, empêche l'infection des souris.

L'apparition de ces propriétés et leur degré sont indépendantes de la marche de la maladie. Elles baissent assez rapidement après la guérison, quand elle survient.

3. — Ce pouvoir protecteur est, jusqu'à un certain point, *spécifique*. Il peut aider à la différenciation des Trypanosomes.

4. — Il résiste au chauffage à 56-64°.

5. — Les substances actives se fixent, au moins en partie, sur

le corps des Trypan. qui peuvent ainsi être injectés impunément aux souris.

6. — Les sérums actifs n'exercent *in vitro* aucune action microbicide sur les Trypan., même quand on leur ajoute du sérum (complément) de souris.

7. — *In vivo*, on constate, dans le péritoine des souris qui ont reçu le mélange virus-sérum, une rapide et intense phagocytose des parasites ayant gardé toute leur vitalité.

8. — L'ensemble des faits observés amène à penser que les sérums agissent en rendant les Trypan. phagocytés et qu'ils sont assimilables aux anticorps avec alexine et sensibilisatrice.

II. — On peut retirer du sang des animaux fournisseurs de sérum des Trypan. réfractaires à ces sérums homologues et qui conservent leurs propriétés pendant un assez grand nombre de générations, mesurées par passage par souris (un peu moins de 19 pour un Trypan. isolé d'un bouc, au moins 19 pour un autre retiré d'un chien).

La race d'origine bouc est sensible au sérum de chien, celle d'origine chien au sérum de chèvre, mais avec une certaine atténuation, en comparaison de notre race ordinaire par souris.

La race d'origine bouc, très résistante au sérum prélevé en même temps qu'elle, n'est plus résistante au sérum provenant d'une saignée ultérieure.

EXPLICATION DE LA PLANCHE

Les figures reproduites ici sont prises sur des frottis d'exsudat péritonéal colorés au Giemsa. Les fig. 1 à 8 proviennent d'une ponction faite 10 min. après l'inoculation [du mélange virus-sérum; les fig. 9 et 10, d'une ponction de la même souris faite 20 min. après l'inoculation; la fig. 11, d'une ponction d'une autre souris faite après 1 h. 1/4. Les contours ont été faits à la chambre claire; le grossissement est de 1,100 diam. environ, sauf pour la fig. 9 où il est de 500 environ.

Fig. 1. — Aspect des Trypan. libres dans la cavité péritonéale.

Fig. 2. — Début d'englobement d'un Trypan.

Fig. 3. — Leucocyte renfermant les débris d'un parasite et commençant l'englobement de 2 autres.

Fig. 4. — Leucocyte renfermant les débris de 2 parasites, et commençant à englober 4 autres.

Fig. 5. — Leucocyte à l'intérieur duquel on reconnaît les restes chromatiques (noyau et généralement centrosome) de 7 à 8 parasites. Deux autres Trypan. ont une partie plus ou moins longue de leur extrémité flagellaire à l'intérieur du phagocyte.

Fig. 6. — Agglomération de 3 leucocytes avec débris parasitaires à leur intérieur, et Trypan. à la périphérie.

Fig. 7 et 8. — 2 leucocytes étalés à la surface de la lame et montrant plus nettement que les précédents les diverses phases de la phagocytose des Trypanosomes. Dans la fig. 7, 3 hématies.

Fig. 9. — Dessin d'ensemble donnant une idée des agglomérations de leucocytes ayant plus ou moins absorbé de parasites.

Fig. 10. — 5 leucocytes avec nombreux débris phagocytaires; on ne trouve plus que 2 Trypan. en bon état à leur périphérie.

Fig. 11. — 2 leucocytes dans lesquels on trouve les derniers restes de la digestion des Trypanosomes.

Les précipitines du sérum antivenimeux vis-à-vis du venin de cobra.

PAR A. CALMETTE ET L. MASSOL

(Institut Pasteur de Lille.)

Dans un mémoire publié par *The Lancet* en 1904 (1), *Geo. Lamb*, exposant les résultats de ses recherches sur la précipitation du venin par les sérums antivenimeux, croyait devoir conclure que le sérum de lapin, immunisé contre le venin de cobra, précipite ce dernier en solution plus ou moins concentrée, mais que, par contre, le sérum de cheval, même très antitoxique, est dépourvu de toute propriété précipitante.

Comme nous avons fait à diverses reprises des constatations tout opposées avec les sérums antivenimeux préparés à l'Institut Pasteur de Lille, il nous a paru nécessaire d'élucider les raisons de ces divergences. Nous avons étudié spécialement, dans ce but, les sérums provenant de différentes saignées de trois chevaux.

*
* *

I. — CONDITIONS DE FORMATION DU PRÉCIPITÉ.

Si l'on introduit dans une série de tubes à essais une dose constante de venin, 5 milligrammes, par exemple, puis des volumes croissants de sérum antivenimeux de cheval dont le pouvoir antitoxique est tel que 1 c. c. neutralise 1 milligr. de venin de cobra, et si l'on égalise les volumes dans tous les tubes par addition d'eau salée physiologique, on constate qu'au bout d'une heure environ il s'est formé un précipité dans certains tubes et le mélange sérum + venin devient, en quelque sorte, sirupeux.

(1) *On the precipitine of Cobra venom, The Lancet*, 2 avril 1904, p. 916-921.

Ce précipité s'observe avec son maximum de netteté lorsque le venin est neutralisé par le sérum. Les tubes qui contiennent trop peu de sérum ou plus de sérum qu'il n'en faut pour neutraliser les 5 milligr. de venin, restent parfaitement limpides.

Cette expérience, renouvelée un grand nombre de fois, nous a toujours donné les mêmes résultats et nous reproduisons ci-après quelques-uns de ceux que nous avons obtenus avec les sérums d'inégale valeur antitoxique, provenant de différentes saignées des chevaux nos 21, 23 et 26.

Dans ces tableaux, la colonne S/V indique les quantités de sérum, qui ont été laissées en contact pendant une heure avec la dose uniforme de 1 milligramme de venin, mais le volume de ce mélange qui fut injecté à chaque souris, a toujours été tel qu'il corresponde à 0 mgr., 5 de venin, c'est-à-dire à 100 doses mortelles.

CHEVAL n° 21

EXPERIENCES	SAIGNÉE I			SAIGNÉE II			SAIGNÉE III		
	S/V	Précipité.	Souris.	S/V	Précipité.	Souris.	S/V	Précipité.	Souris.
N° 1.	0 cc. 6	0	Mort.	0 cc. 6	0	+ 3h.30	0 cc. 8	0	+
2.	0 7	Faible.	Malade.	0 8	0	+ 3h.40	0 9	0	+
3.	0 8	+	Survie.	1	0	+ 36 h	1	+	Survie.
4.	0 9	+	Survie.	1 2	+	Survie.	1 2	+	Survie.
5.	1	Faible.	Survie.	1 6	+	Survie.	1 4	+	Survie.

EXPERIENCES	SAIGNÉES			I			II			III			IV			V			VI		
	S/V	Précipité.	Souris	S/V	Précipité.	Souris	S/V	Précipité.	Souris	S/V	Précipité.	Souris	S/V	Précipité.	Souris	S/V	Précipité.	Souris	S/V	Précipité.	Souris
N°																					
1	0 cc. 8	0	Mort. + 1 h.	0 cc. 8	0	Mort. +	0 cc. 8	0	Mort. +	1 cc. 5	0	Mort. +	1 cc. 7	0	Mort. + 2 h.	1 cc. 4	0	Mort. +	1 cc. 4	0	Mort. +
2	0 8	0	+ 4 h. 35	1	0	+	1 2	0	+	1 6	+ faible.	+ 12 h.	1 8	0	+	1 5	+ faible.	+			+
3	1	0	+ 4 h. 45	1	0	+	1 6	+	Survie.	1 7	+ faible.	+ 22 h.	1 9	+ faible.	+ 8 h.	1 6	+ faible.	Su vie malade.			
4	1 2	0	+ 2 h.	1 6	+ faible.	+ 12 h.	1 8	+	Survie	1 8	+	Survie	2	+ faible.	+ 24 h.	1 8	+	Survie			
5	1 6	+ faible.	+ 72 h.	1 8	+	Survie.	2	+ faible.	Survie.	2	+	Survie.	2 2	+	Survie.	2	+	Survie.			

EXPÉR.	SAIGNÉE I			SAIGNÉE II		
	S/V	Précipité	Souris.	S/V	Précipité.	Souris.
Nos 1	0 cc. 6	0	(Mort.) + 1 h. 30	1 cc. 2	0	(Mort.) +
2	0 8	0	+ 2 h.	1 3	+ faible.	+ 12 h.
3	0 9	+ faible.	+ 6 h.	1 4	+	Survie.
4	1	+ faible.	+ 12 h.	1 5	+	Survie.
5	1 2	+	Survie.	1 7	+ faible.	Survie. ^a

On voit donc que le précipité, dans un mélange de sérum + venin, apparaît généralement au voisinage du point de neutralisation, et la coïncidence des deux phénomènes de *précipitation* et de *neutralisation* du venin est si manifeste que, dans la suite de nos expériences, nous avons trouvé qu'on peut utiliser cette réaction pour effectuer *in vitro* un titrage préalable et approximatif des sérums antivenimeux. On réalise ainsi une économie appréciable de temps et d'animaux d'épreuve.

En résumé :

Les sérums de chevaux vaccinés contre le venin de cobra précipitent ce venin *in vitro*. Mais, pour que cette précipitation apparaisse, il faut :

1° Une dose optima de sérum qui est toujours voisine de la dose exactement neutralisante pour la souris;

2° Un temps de contact convenable (au moins une heure, à la température du laboratoire).

Les résultats discordants signalés par *Geo. Lamb* proviennent sans doute de ce que ces conditions essentielles n'ont pas été réalisées.

*
* *

II. — ACTION PRÉCIPITANTE DU SÉRUM SUR LE VENIN DÉPOUILLÉ DE SES ALBUMINES COAGULABLES PAR LA CHALEUR.

On sait que, pour éviter la formation des abcès à la suite des injections massives de venin, les solutions de ce dernier sont

toujours chauffées pendant 30 minutes à 76-78° au bain-marie, puis filtrées sur papier stérile, avant d'être injectées aux chevaux. Il importait donc de vérifier si le venin, privé de ses albumines par chauffage et filtration préalables, pouvait encore être précipité *in vitro* par son mélange avec le sérum.

L'expérience suivante a été faite comparativement avec le même sérum et avec deux solutions du même venin, l'une non chauffée, l'autre chauffée 30 minutes à 78°, puis filtrée :

EXPÉRIENCES	S/V	PRÉCIPITÉ	
		Venin non chauffé.	Venin chauffé.
N° 1	0 cc. 9	0	0
2	1	0	0
3	1,2	+	—
4	1,4	+	+
5	1,6	+ faible.	+ faible.

Le phénomène de précipitation apparaît donc identique avec l'un et l'autre venin; il est indépendant des albumines coagulables par la chaleur, lesquelles sont, d'ailleurs, *atoxiques*, ainsi que nous l'avons antérieurement démontré (1).

* * *

III. — ACTION PRÉCIPITANTE DU SÉRUM SUR LA NEUROTOXINE DU VENIN

Le précipité, obtenu dans un mélange sérum + venin assez exactement neutralisé pour qu'il soit atoxique pour la souris, peut être séparé par une centrifugation suffisamment prolongée. On constate alors qu'il est insoluble dans l'eau salée physiologique : on peut lui faire subir une série de lavages et de centrifugations successives pour le purifier.

Ce précipité se redissout dans l'eau salée physiologique légèrement acidulée par quelques gouttes d'acide chlorhydrique normal. Il se précipite de nouveau si l'on neutralise par la soude.

(1) CALMETTE, Les venins, les animaux venimeux et la sérothérapie antivenimeuses. Masson. édit., Paris. 1907, p. 168.

Il se redissout avec la même facilité lorsqu'on ajoute un peu de venin en excès au liquide qui le tient en suspension (ce qui explique que le précipité n'apparaisse qu'aux environs du point de neutralisation).

Si l'on injecte séparément, à deux souris, le précipité à l'une, le sérum surnageant à l'autre, en quantités correspondant au volume initial du mélange, les deux souris restent parfaitement bien portantes.

D'autre part, lorsqu'on injecte à une troisième souris le précipité remis en solution par l'acide chlorhydrique, l'animal survit également.

Donc, l'antitoxine paraît rester intimement liée à la neurotoxine du venin.

Nous avons voulu voir si, en employant la méthode de dissociation décrite par nous dans un précédent mémoire (1), il serait encore possible de dissocier le venin d'une pareille combinaison.

A cet effet, nous avons chauffé pendant une heure, à 72°, séparément, le précipité et le sérum surnageant, préalablement acidulés l'un et l'autre par HCl (0 c. c., 1 d'acide normal pour 1 c. c.), et ramenés à un volume égal au volume initial du mélange. Après neutralisation par la soude, nous avons injecté à des souris 0 c. c., 5 de chacun de ces liquides à des degrés variables de dilution correspondant à une concentration variable en venin initial.

Les tableaux ci-après résument les résultats obtenus avec trois sérums différents. Les poids de venin inscrits sont calculés comme si tout le venin était localisé dans le précipité ou dans le liquide décanté.

SÉRUM I.

EXPERIENCES	0 c. c. 5 de dilution à	POIDS de venin	SÉRUM décanté	PRÉCIPITÉ
N° 1	1/2	0 mgr. 200	Survie.	+ 2 h.
2	1/4	0 mgr. 100	Survie.	+ 2 h. 10
3	1/10	0 mgr. 040	Survie.	+ 3 h.
4	1/20	0 mgr. 020	Survie.	très mal. survie.

(1) Ces *Annales*, 25 décembre 1907, p. 940-941.

SÉRUM II

EXPÉRIENCES	0 c. c. 5 de dilution à	POIDS de venin	Sérum décanté. (Souris).	PRÉCIPITÉ (Souris).
N ^{os} 1	Tel	mgr. 0.284	+ 43'	"
2	1/2	0.142	+ 2 h. 30	+ 50'
3	1/4	0.071	+ 2 h.	+ 55'
4	1/8	0.035	survie.	+ 2 h. 30
5	1/10	0.0284	"	+ 2 h. 35
6	3/40	0.0213	"	+ 3 h.
7	1/20	0.0142	"	+ 3 h.
8	1/30	0.0095	"	survie.
9	1/40	0.0071	"	survie.

SÉRUM III

EXPÉRIENCES	0 c. c. 5 de dilution à	POIDS de venin.	Sérum décanté. (Souris).	PRÉCIPITÉ (Souris.)
N ^{os} 1	Tel	mgr. 0.200	+ 2 h. 30	+ 45'
2	1/2	0.100	survie.	+ 40'
3	1/4	0.050	survie.	+ 2 h. 20
4	1/8	0.025	survie.	+ 2 h. 30
5	3/32	0.01875	"	+ 3 h.
6	1/16	0.0125	"	+ 4 h.
7	1/20	0.010	"	survie.
8	1/30	0.0066	"	survie.

La plus grande partie du venin (83 à 94 0/0) se trouve donc précipitée en même temps que l'antitoxine. Et si l'on pouvait réaliser une séparation intégrale du liquide et du précipité, la récupération du venin serait encore plus complète; mais cela est impossible à obtenir avec des centrifugations et des lavages successifs.

Dans deux mensurations différentes, nous avons trouvé que la précipitation entraînait respectivement 31 à 37 0/0 de l'extrait

sec du sérum, soit 46 et 42 fois le poids de venin mis en présence de ce sérum.

IV. — ÉTUDE DU PRÉCIPITÉ ATOXIQUE SÉRUM + VENIN DESSÉCHÉ

Pour obtenir une quantité suffisante de précipité atoxique *sérum + venin*, nous avons desséché dans le vide, à la température de 50°, après plusieurs centrifugations et lavages, tout le précipité obtenu du mélange de 240 c. c. de sérum antivenimeux avec 0^{gr}, 200 de venin. Nous avons recueilli ainsi 7 grammes d'une poudre blanc-jaunâtre, soit 35 fois le poids du venin mis en œuvre.

Cette poudre est *insoluble* dans l'eau salée physiologique, même après plusieurs heures de chauffage au bain-marie à 40°. Elle ne se redissout pas davantage en présence d'un excès de venin, contrairement à ce qu'on observe pour le même précipité à l'état frais. Le liquide, décanté après centrifugation et évaporé, fournit 22 grammes d'un résidu jaune, beaucoup plus soluble, soit 75 0/0 environ de l'extrait sec de sérum.

On fait une suspension fine à 1 0/0 du premier, une solution à 1 0/0 du second, et les deux produits sont injectés séparément à la dose de 1 c. c. à deux souris qui restent en parfaite santé.

Les mêmes produits, acidulés par l'acide chlorhydrique, sont ensuite chauffés pendant une heure à la température de 72°. Après neutralisation à la soude, nous trouvons que le second liquide est atoxique, tandis que le premier (précipité) donne les résultats suivants :

SOURIS	DILUTION du liquide injecté.	POIDS de venin correspondant.	RÉSULTATS Souris.
N° 1	tel.	mgr. 0. 117	+ 2 h. 15
2	1/2	0. 0585	+ 2 h. 45
3	1/4	0. 0292	+ 4 h. 20
4	1/6	0. 0195	+ 7 h.
5	1/8	0. 0146	+ 6 h.
6	1/10	0. 0117	Survie.
7	1/12	0. 0097	Survie.

Si nous supposons que les 7 grammes de précipité contenaient les 0^{gr},200 de venin, on a donc, dans 100 c. c. de solution, $\frac{0^{\text{gr}},200}{7} = 0^{\text{gr}},02855$ de venin. Si l'on tient compte de la dilution résultant de l'acidification et de la neutralisation, chaque souris aurait, par suite, reçu, sous 0 c. c. 5 en volume, la quantité de venin inscrite dans la 3^e colonne du tableau qui précède et l'expérience montre qu'ici encore nous avons régénéré la presque totalité du venin entraîné dans le précipité sec.

Les propriétés de ce précipité sec n'ont subi aucun changement après deux mois de conservation en flacon bouché.

Il était intéressant de rechercher si la digestion artificielle de ce précipité sec atoxique, insoluble dans l'eau salée physiologique, permettrait, après chauffage à 72°, de récupérer le venin. A cet effet, nous avons traité 0^{gr},1 du précipité, finement pulvérisé et émulsionné dans 10 c. c. d'eau distillée, par 0^{gr},020 de trypsine d'abord, puis, dans une autre expérience, par 0^{gr},020 de papaine de Merck. Au bain-marie, à 37°, la trypsine fournit une digestion complète en 1 heure. A 46°, avec la papaine, la solubilisation est incomplète dans le même temps.

On injecte respectivement à six souris les doses suivantes :

SOURIS	LIQUIDE TRYPSINÉ	SOURIS	LIQUIDE PAPAINÉ
1	0 c.c. 5. + 3 heures.	1	0 c.c. 5. + 3 heures.
2	0 25. + 24 heures.	2	0 25. Survie.
3	0 125. Malade, survie.	3	0 125. Survie.

Une expérience témoin, faite avec les liquides papainés et trypsinés seuls, montre que les solutions de ces diastases, injectées à la dose maxima de 0 c. c. 5, ne sont pas toxiques pour les souris.

On voit que la digestion tryptique détruit une partie de l'antitoxine fixée sur le venin et libère une faible portion de ce dernier plus activement que la digestion papaique.

Après chauffage de 30 minutes à 72°, la toxicité des deux liquides reste la même.

Les deux liquides sont ensuite légèrement acidulés par HCl, chauffés à 72° pendant 60' et injectés à six autres souris aux

doses de 0 c.c. 5, 0 c.c. 25, 0 c.c. 125. Les six souris meurent sensiblement dans les mêmes délais que si elles avaient reçu des quantités équivalentes de venin seul. Par cet artifice, la dissociation du venin et du sérum dans le précipité sec atoxique est donc complète.

On peut d'ailleurs neutraliser de nouveau par du sérum antivenimeux le venin ainsi libéré. Les souris inoculées avec les mélanges neutralisés restent indemnes. Par conséquent, la digestion trypsique et papaïque, de même que l'acide chlorhydrique, n'ont modifié en aucune manière les propriétés du venin, puisque celui-ci récupère à la fois sa toxicité primitive et son aptitude à se recombinaison avec l'antitoxine.

* * *

CONCLUSIONS

1° Le sérum de cheval vacciné contre le venin de cobra précipite ce venin ;

2° Ce précipité n'apparaît qu'au moment où le mélange *sérum + venin* devient atoxique et après environ une heure à la température du laboratoire. Il ne se produit plus lorsque le sérum est en excès ;

3° Il en résulte que cette réaction précipitante peut servir à mesurer approximativement *in vitro* la valeur antitoxique d'un sérum antivenimeux ;

4° Dans un mélange *sérum + venin*, exactement neutralisé, le précipité et le liquide, séparés par centrifugation, sont atoxiques ;

5° Le précipité apparaît aussi net lorsqu'on emploie des solutions de venin non chauffées ou des solutions de venin préalablement débarrassées, par chauffage à 76-78° suivi de filtration, de ses albumines coagulables par la chaleur, lesquelles sont d'ailleurs atoxiques ;

6° Le précipité atoxique *sérum + venin* à l'état frais, est insoluble dans l'eau salée physiologique, mais soluble dans l'eau légèrement acidulée par HCl ou en présence d'un excès de venin ;

7° Le même précipité, chauffé à 72° en milieu acide récupère à peu près toute sa toxicité primitive. Le venin et l'antitoxine s'y trouvent donc dissociés et l'antitoxine détruite ;

8° En se précipitant sous l'action du sérum, le venin entraîne environ 30 à 40 fois son poids d'extrait sec du sérum ;

9° Le précipité atoxique *sérum + venin*, séparé par centrifugation et lavé, peut être conservé à l'état sec. Sous cette forme il est insoluble dans un excès de venin et dans l'eau acidulée, mais il peut être dissous et subir un commencement de dédoublement par la digestion trypsique ou papaïque. Si l'on chauffe le produit de cette digestion à 72° en présence d'une très petite quantité d'acide chlorhydrique, l'antitoxine est détruite, tandis que le venin est remis en liberté, récupérant alors toute sa toxicité et son aptitude à être neutralisé de nouveau par l'antitoxine.

Ces faits venant à l'appui de ceux qui ont été antérieurement établis d'abord par nous-mêmes, puis par *C.-J. Martinet Cherry*, et par *J. Morgenroth*, démontrent une fois de plus que, dans les mélanges neutres *toxine + antitoxine* (au moins pour ce qui concerne les venins), il ne se forme qu'une combinaison chimique instable entre ces deux substances. Même plus de deux mois après que les mélanges neutres ont été effectués, ils peuvent encore être dissociés, l'antitoxine étant détruite et le venin récupéré presque intégralement.

DE L'ANAPHYLAXIE

SIXIÈME MÉMOIRE (1)

DE L'ANAPHYLAXIE LACTIQUE

PAR LE D^r BESREDKA

Travail du laboratoire de M. Metchnikoff

La constitution du lait, si voisine de celle du sérum, faisait entrevoir la possibilité de mieux concevoir le mécanisme de l'anaphylaxie, le jour où l'on connaîtrait l'anaphylaxie lactique. Dans un prochain article, nous montrerons tout le parti que l'on peut tirer de cette dernière, pour la compréhension de l'anaphylaxie sérique; ici, nous nous bornerons à exposer les faits uniquement relatifs au lait.

Au moment où nous avons commencé l'étude de l'anaphylaxie lactique, voici à quoi se résumaient nos connaissances. On savait que l'on pouvait rendre le lapin hypersensible aux injections sous-cutanées du lait et que cette hypersensibilité était spécifique; ces deux faits ressortaient d'un passage de la courte note d'Arthus devenue aujourd'hui classique (2). Plus tard, Rosenau et Anderson (3) y sont revenus au sujet de l'anaphylaxie, en général, sans y insister autrement : après avoir injecté à des cobayes, la première fois 1 c. c. de lait sous la peau, ils ont vu qu'une seconde injection de 10 c. c. de lait dans le péritoine, faite 26 à 31 jours plus tard, déterminait des troubles graves; tout dernièrement (3), ils ont reconnu que cette réaction était spécifique et qu'elle l'était même plus que ne le croyait Arthus, car les cobayes, sensibilisés avec du lait de femme ou de chien, ne réagissaient qu'au lait d'espèce correspondante et étaient indifférents à celui de vache. Là s'arrêtent nos connaissances sur l'anaphylaxie lactique.

Avant de chercher à approfondir cette question, nous jugeâmes nécessaire de perfectionner d'abord la technique. On ne

(1) Voir ces *Annales*, pp. 117; 384; 777; 950, année 1907; p. 496, année 1908; voir aussi notre revue in *Bulletin de l'Institut Pasteur*; nos 19, 20, 21; année 1908. *Soc. de Biologie*; p. 888, t. LXIV; p. 478, t. LXV.

(2) *Soc. de Biologie*, 1903.

(3) *Bull. Labor. d'hyg.* Washington, nos 36, 45.

saurait, en effet, chercher les conditions de l'immunité anti-anaphylactique avant de posséder un moyen sûr de tuer à tout coup l'animal témoin. Or, si l'on se reporte aux expériences de Rosenau et Anderson, on voit que, dans une série, sur neuf animaux anaphylactisés, puis éprouvés avec 10 c. c. dans le péritoine, un seul cobaye est mort; dans la seconde série d'expériences, sur huit cobayes sensibilisés, puis éprouvés dans les mêmes conditions, aucun des animaux n'est mort. Certes, on peut se guider sur les symptômes plus ou moins graves qu'accusent les animaux lors de l'épreuve, mais, comme ces symptômes peuvent varier d'un cobaye à l'autre, nous estimons que cela n'est pas suffisant; à notre avis, on ne peut affirmer que l'animal est en état d'anaphylaxie que le jour où l'on a la certitude que cet animal, injecté une deuxième fois avec du lait, y succombera en quelques instants au milieu des accidents anaphylactiques connus.

* * *

Pour obtenir cette certitude, il faut avoir recours à la voie cérébrale, qui nous a rendu déjà de si précieux services au cours de l'anaphylaxie sérique. Nous recommandons donc, pour avoir la mort certaine et en quelques minutes, d'injecter $1/4$ c. c. de lait dans le cerveau; on peut même en injecter moins, car chez les cobayes bien anaphylactisés, la *toxicité* du lait est telle, que l'on peut déterminer la mort à coup sûr avec $1/10$ c. c., soit avec $1/4$ c. c. du lait dilué de 2 fois $1/2$ d'eau physiologique.

Le lait à injecter dans le cerveau ne doit pas être cru : ce dernier entraîne souvent la mort le lendemain de l'opération, et cela, indépendamment de l'état anaphylactique du cobaye; pour injections intra-cérébrales, nous recommandons d'user du lait qui a été chauffé à 100° pendant vingt minutes.

Cette température n'atténue pas sensiblement la toxicité du lait. Pour le sérum sanguin, nous avons vu que, chauffé à 100° , il perdait toute action toxique, même dans le cas où il n'y a pas eu de coagulation. Le lait est beaucoup moins sensible au chauffage sans y être pourtant indifférent.

Ainsi, du lait chauffé à 100° , pendant vingt minutes, ou même à 120° pendant quinze minutes, tue encore très bien un cobaye hypersensible à la dose de $1/10$ de c. c., ce qui tient évidemment

à ce que le lait reste parfaitement liquide à des températures très élevées. Mais passé 120°, le lait, tout en restant encore visiblement liquide, perd de plus en plus de sa toxicité, de sorte qu'après chauffage à 130°-15', le lait quoiqu'encore toxique (toux, respiration accélérée, tendance à se coucher) n'arrive plus à tuer, même à la dose de 1/4 c. c. Lorsqu'on chauffe le lait encore davantage (135° ou 140°), il devient gélatiniforme et à cet état de demi-coagulation il n'est pas toxique du tout.

Il est à peine besoin d'ajouter que, chez le cobaye normal, l'injection dans le cerveau, même de 1/4 c. c. et de lait même non chauffé, ne produit jamais le moindre trouble.

Cette toxicité chez les cobayes hypersensibles n'est spécifique que jusqu'à un certain degré; ainsi nous avons pu constater que les cobayes sensibilisés avec du lait de vache, ne réagissaient pas à l'injection intra-cérébrale (1/4 c. c.) de lait de femme; par contre, ils réagissaient très nettement vis-à-vis du lait de chèvre qui les tue en quelques minutes. La spécificité n'est donc pas absolue.

Nous avons vu, de plus, que le lait de vache n'est pas toxique du tout pour les cobayes sensibilisés avec du sérum de vache.

* * *

Voyons maintenant quelle est la meilleure technique pour la *sensibilisation*.

Nous avons introduit du lait cru et du lait cuit, tantôt sous la peau, tantôt dans le péritoine, et nous avons vu que la sensibilisation par la voie sous-cutanée n'est pas sans présenter des inconvénients, par suite de la résorption parfois lente et très inégale du lait.

La voie intrapéritonéale est, à cet égard, plus fidèle, mais à la condition que l'on ne fasse pas usage de lait cru, qui souvent fait maigrir les animaux et les cachectise à la longue. Le mieux est de se servir, pour bien sensibiliser, du lait qui a été chauffé à 100° pendant 20 minutes; on en injecte 1 c. c. dans la cavité péritonéale, en choisissant de préférence des cobayes de 300 à 400 grammes; à partir du 16^e, mieux encore à partir du 20^e jour, les cobayes seront dans la majorité des cas rendus nettement hypersensibles au lait.

La substance qui anaphylactise le cobaye, ou le sensibilis

nogène, pour nous servir du terme employé dans nos mémoires antérieurs, est donc thermostable. Elle résiste à 100° et même à 120° : nous avons, en effet, sensibilisé nombre de fois avec du lait qui a été chauffé à 120° pendant 1/4 d'heure et cela aussi bien qu'avec du lait non chauffé.

Porté à des températures encore plus élevées (130°-140°) le lait sensibilise de moins en moins bien. Le pouvoir sensibilisant du lait se comporte, vis-à-vis de la température, comme son pouvoir toxique : tous les deux résistent à 120° et tous les deux baissent au delà pour disparaître vers 135°-140°.

Notons, en passant, que le parallélisme n'existe guère pour les sérums sanguins; si le sensibilisinogène de ces derniers est thermostable, leur pouvoir toxique est, par contre, thermolabile : déjà atténué à 70°, ce pouvoir baisse dans les sérums, progressivement avec la température, pour disparaître complètement à 100°.

A plusieurs reprises, au cours de ces études sur l'anaphylaxie lactique, nous essayâmes de sensibiliser les cobayes par la voie buccale ou rectale, mais toujours sans le moindre succès.

Après avoir introduit à une série de cobayes, par la bouche, 3 c. c. ou 6 c. c. ou 7 c. c. de lait cru, nous les éprouvions ensuite dans le cerveau après des intervalles de 16, 18, 23, 30 et 44 jours; jamais nous n'observâmes le moindre symptôme anaphylactique.

De même les cobayes qui avaient reçu du lait par le rectum se montrèrent ensuite réfractaires à l'injection du lait dans le cerveau : à six cobayes, nous injectâmes dans le rectum, après un lavement glycériné, 1 c. c., 2 c. c. et 3 c. c. de lait cru; puis, 28 jours plus tard, nous les éprouvâmes par la voie cérébrale (1/8 c. c. lait à 100°-20'); aucun des cobayes ne réagit. Il en fut de même des cobayes qui avaient reçu, après lavement, 20 c. c. de lait par le rectum; éprouvés 26 jours plus tard, ils se sont comportés comme des cobayes neufs.

Il s'ensuit donc que du lait introduit par la bouche ou par le rectum n'est pas susceptible de sensibiliser les cobayes, au moins, dans les conditions d'expérience indiquées.

* * *

Maintenant que nous sommes en état de reproduire à volonté le syndrome anaphylactique mortel, et que nous connaissons

les conditions qui président à la sensibilisation du cobaye, nous pouvons aborder l'étude de *l'immunité antianaphylactique*.

Par analogie avec l'anaphylaxie sérique, nous nous demandâmes d'abord si, avec une dose massive de lait, on réussit à vacciner l'animal contre l'épreuve intra-cérébrale.

Les expériences entreprises dans cet ordre d'idées ont été affirmatives : avec 5 c. c. de lait injecté la veille dans le péritoine, nous protégeons sûrement le cobaye le lendemain contre l'injection mortelle de lait (1/10 c. c.).

Mais, où cette analogie fit défaut, c'est lorsque nous constatâmes que le lait chauffé à 100° et même au delà conservait intégralement son pouvoir vaccinant; le lecteur se rappelle que, lorsqu'on porte à 100° le sérum sanguin, on lui fait perdre son action vaccinnante, au moins, dans les 24 heures qui suivent l'injection du sérum.

Chaudfons maintenant le lait à 120° pendant 15 minutes. Nous avons vu tout à l'heure que ce lait est capable de sensibiliser le cobaye et que, injecté dans le cerveau à des cobayes déjà sensibilisés, il est encore très toxique. Or, l'expérience de vaccination montre que ce lait est, en plus, susceptible de protéger, d'une manière efficace, contre les accidents anaphylactiques.

Poussons le chauffage plus haut, à 130° pendant 15 minutes. Sorti de l'autoclave, le lait est encore parfaitement liquide, mais il n'a plus sa teinte ordinaire; il a pris une teinte café au lait.

Ce lait ne sensibilise plus; il ne tue plus dans le cerveau, mais il vaccine encore très bien en injections péritonéales; il suffit d'en injecter la veille 5 c. c. à un cobaye hypersensible pour le voir le lendemain résister, sans le moindre trouble, à l'épreuve intra-cérébrale mortelle (1/10 de c. c. de lait chauffé 20 minutes à 100°).

Ces faits comportent un double enseignement ; ils montrent : 1° que les deux propriétés sensibilisante et toxique marchent de pair dans les laits chauffés; 2° que la propriété vaccinnante peut être dissociée des deux autres propriétés.

En d'autres termes, un lait peut posséder des propriétés vaccinnantes sans pour cela être sensibilisant et surtout toxique.

* *

Quelle est la substance qui, dans le lait, détient le pouvoir vaccinant?

La facilité avec laquelle le lait se décompose en caséine, beurre et petit-lait, permet jusqu'à un certain degré de serrer le problème de près.

Pour simplifier, nous opérons sur du lait écrémé; quant à la séparation de la caséine du petit-lait, nous la réalisons au moyen du ferment lactique bulgare.

Nous avons analysé, plus haut, les différentes propriétés du lait, en nous aidant de températures variables; procédons maintenant à la séparation biologique du lait, très imparfaite, cela va sans dire; voyons comment ses propriétés sont réparties dans les deux portions principales, la caséine et le petit-lait.

La *caséine*, séparée du petit-lait par centrifugation, ou mieux, encore par filtration, sensibilise aussi bien que le lait tout entier.

Injectée dans le péritoine, même après avoir été soigneusement lavée à l'eau physiologique, la caséine vaccine très bien les cobayes hypersensibles contre l'épreuve cérébrale (1/10 c. c.).

Quant à la troisième propriété, qui est la toxicité, elle est très prononcée par la voie cérébrale, malgré la consistance semi-liquide de la caséine.

Examinons maintenant le *petit-lait* tel qu'on l'obtient, soit après centrifugation du lait caillé, soit après filtration sur papier à filtre.

Sa toxicité d'abord. Pour l'établir, nous choisissons des cobayes bien sensibilisés et nous leur injectons dans le cerveau des quantités variables (1/20 à 1/4 c. c.) de petit-lait.

L'expérience montre que, même à la dose maxima de 1/4 c. c., injecté dans le cerveau, il est incapable de déterminer le moindre trouble chez les cobayes anaphylactisés.

Le petit-lait n'est donc pas toxique. Comme dans toutes nos expériences faites jusqu'ici, le pouvoir toxique paraissait intimement lié au pouvoir sensibilisant, nous nous sommes aussitôt demandé si ce dernier aussi ne ferait pas défaut.

Trois séries de cobayes ont été injectés sous la peau avec 1 c. c. et 0 c. c., 5 de petit-lait, puis éprouvés dans le cerveau (avec 1/10 c. c.-1/4 de lait chauffé à 100°), à l'expiration de 16, 18

et 21 jours. Aucun des cobayes ne présenta le moindre trouble anaphylactique. Il en fut de même dans une autre série d'expériences, où nous injectâmes à des cobayes, sous la peau, 1 c. c. 5, 2 c. c., 3 c. c. et 4 c. c. de petit-lait bien transparent; chez aucun de ces cobayes, éprouvés 20, 30 et 40 jours plus tard, nous n'avons observé le moindre trouble lors de l'épreuve intracérébrale.

Si nous nous étions arrêté là, nous aurions conclu à l'absence du pouvoir sensibilisant et nous aurions ainsi affirmé une chose inexacte, car il y a des conditions où le petit-lait sensibilise. C'est lorsqu'on opère, non sur du petit-lait liquide, clair et acide, mais sur du petit-lait précipité par la solution de soude, puis émulsionné dans l'eau physiologique; nous allons y revenir dans un instant.

Il nous restait à rechercher la propriété vaccinante du petit-lait. Or, les cobayes qui étaient en pleine anaphylaxie et auxquels nous avons injecté, dans le péritoine, 7 c. c. de petit-lait non chauffé ou bien chauffé à 100°, supportèrent le lendemain la dose sûrement mortelle de lait (1 / 10 c. c. de lait 100°- 20°) dans le cerveau.

Le petit-lait se montra donc, à notre grande surprise, vaccinant, tout en étant complètement atoxique.

* * *

Puisque la substance vaccinante est contenue dans le petit-lait, le cercle de nos recherches s'en trouva très resserré; on sait, en effet, que ce liquide est relativement pauvre en matières solides : outre le caséum ou la matière albuminoïde, sur laquelle nous reviendrons dans un instant, il renferme du lactose, de l'acide lactique, du phosphate de chaux et d'autres sels minéraux. On pouvait entrevoir, dès lors, la possibilité de préciser laquelle des substances du petit-lait possédait le pouvoir vaccinant.

En neutralisant le petit-lait avec de la solution de soude, nous vîmes paraître un précipité floconneux, grisâtre, très léger; après l'avoir laissé se déposer jusqu'au lendemain, nous décantâmes la partie liquide surnageante, et nous reprîmes le précipité, qui est de consistance gélatineuse, par l'eau physiologique. Le précipité en question s'y émulsionne très bien, si

bien, que l'on croit au premier abord à une vraie dissolution.

Lorsqu'on injecte ce précipité, émulsionné dans l'eau physiologique, dans le péritoine des cobayes hypersensibles, on constate que ces derniers deviennent vaccinés; la substance active qui crée l'état d'antianaphylaxie vis-à-vis du lait, se retrouve donc dans le précipité gélatineux du petit-lait.

Faisons remarquer que, en plus de ses propriétés vaccinales, ce précipité est capable, comme nous l'avons déjà indiqué plus haut, de sensibiliser les cobayes; ainsi, sur dix cobayes sensibilisés avec 1/10 de c. c. d'émulsion très fine dans l'eau physiologique, nous avons réussi à en tuer six, en les éprouvant dans le cerveau au bout d'un délai de 20 et 22 jours (1/10 c. c. de lait à 100°-20').

Par contre, ce précipité est dépourvu, par lui-même, de toute action toxique; même en une émulsion très chargée, il n'est pas plus toxique que ne l'est le petit-lait originel, liquide. Injecté dans le cerveau à la dose de 1/4 c. c., il provoque tout au plus un malaise général dont les cobayes se remettent d'ailleurs très vite.

En résumé, le petit-lait naturel, liquide, n'est pas sensibilisant; il n'est pas toxique non plus, tout en étant vaccinant; le petit-lait précipité est sensibilisant, mais il est atoxique et vaccinant.

*
* *

Voyons maintenant rapidement ce que peut être *grosso modo*, au point de vue de sa constitution, la substance du petit-lait qui a le pouvoir de vacciner le cobaye hypersensible, sans lui faire courir le moindre danger d'anaphylaxie.

La matière albuminoïde contenue dans le petit-lait a été l'objet de longues recherches. Les chimistes n'ont pas pu se mettre d'accord sur le nom à donner à cette substance, mais ils sont à peu près unanimes à l'estimer plus ou moins différente des autres albuminoïdes du lait.

Ainsi, d'après Hammarsten, « sous l'influence de la diastase ajoutée, la caséine du lait se partage en deux nouvelles substances. La plus importante, comme poids, est insoluble en présence du phosphate de chaux dissous dans le lait et se

précipite à l'état de coagulum; l'autre partie de la caséine reste en solution à l'état de protéine du petit-lait » (1).

Il y a donc lieu de distinguer dans le lait, outre la matière précipitante par la chaleur et appelée albumine, deux autres matières albuminoïdes : une, la caséine, qui se précipite sous l'action des acides, et une autre qui ne précipite ni par la chaleur employée seule, ni par la chaleur et les acides; cette dernière est la protéine du petit-lait de Hammarsten, c'est celle qui nous intéresse tout particulièrement; c'est elle qui a été désignée aussi sous le nom d'albuminose par Bouchardat et Quevenne, puis sous le nom de lactoprotéine par Millon et Commaille.

Pour Duclaux, comme on le sait, il n'y a qu'un seul albuminoïde dans le lait, c'est la caséine; pour Duclaux, l'albumine du lait, sa caséine et sa lactoprotéine ne sont qu'une seule et même chose, de la caséine à des degrés divers de solution.

Pour nous, biologistes, quelles que soient les idées que l'on se fasse sur la constitution des matières albuminoïdes du lait, ce qui importe avant tout, c'est de savoir que l'on peut vacciner contre l'anaphylaxie avec cette matière albuminoïde qui, à l'encontre de toutes les autres, reste seule en solution malgré l'action de la chaleur et des acides; pour souligner cette propriété, nous lui conserverons un nom à part, celui de *lactoprotéine*, proposé par Millon et Commaille.

*
* * *

Le fait que le petit-lait à lui seul, ou mieux encore la substance que nous appelons lactoprotéine (2), peut conférer l'immunité contre l'anaphylaxie, sans que l'on ait à faire intervenir la caséine vraie (colloïdale, d'après Duclaux), nous a suggéré l'idée de vacciner par les voies digestives; car, s'il y a une substance du lait qui soit susceptible d'être résorbée rapidement dans l'intestin sans subir de grosses modifications, c'est certainement celle du petit-lait.

Nous essayâmes d'abord de vacciner les cobayes *par la voie rectale*. Pour faciliter le pouvoir résorbant de l'intestin, nous commençons par administrer aux cobayes anaphylactisés un

(1) Il est bien probable qu'en se précipitant, la lactoprotéine entraîne avec elle les phosphates.

(2) Cité d'après Duclaux, *Le lait*, 1887.

lavement glyciné. Six heures après le lavement, nous injectons dans le rectum une vingtaine de c. c. de petit-lait ou de lait cru. Notons que quel que soit le soin que l'on apporte à ces injections intra-rectales, il est difficile d'éviter des pertes de liquide; on est donc obligé d'injecter, pour obtenir l'effet désiré, beaucoup plus de liquide qu'il n'en faut en réalité.

L'expérience est généralement ainsi disposée : à onze heures du matin, on administre le lavement; à cinq heures du soir, on injecte 20 c. c. de lait dans le rectum, puis on laisse l'animal à jeun jusqu'au lendemain matin, à l'heure de l'épreuve intra-cérébrale.

L'expérience montre que les cobayes ainsi traités supportent le lendemain dans le cerveau $1/10$ de c. c. de lait ($100^{\circ}-20'$), dose mortelle pour le témoin.

Ceci établi, nous avons cherché à vacciner par la voie buccale, soit avec du petit-lait, soit avec du lait cru.

Les résultats furent les mêmes que plus haut : la voie buccale présente même un certain avantage sur la voie rectale, car on peut faire absorber à l'animal la dose voulue de liquide sans risque d'en perdre, comme lors des injections intra-rectales. Les cobayes sensibilisés, auxquels on injecte d'abord par la bouche 10 c. c. de lait cru, puis que l'on éprouve par le cerveau le lendemain ($1/10$ de c. c.), se montrent réfractaires.

On peut donc vacciner contre l'anaphylaxie lactique par deux procédés, tous les deux complètement inoffensifs pour l'animal : on peut employer le petit-lait et l'injecter par toutes les voies accessibles; on peut aussi s'adresser au lait cru que l'on donnera par le rectum ou la bouche; ainsi administré, le lait peut être introduit dans l'organisme à des doses hyper-toxiques, sans la moindre crainte des accidents de l'anaphylaxie et avec la certitude de vacciner l'animal.

CONCLUSIONS

1° Chez les cobayes sensibilisés au lait, on détermine le syndrome anaphylactique, avec issue mortelle en quelques minutes, si l'on injecte du lait dans le cerveau ($1/4$ c. c. à $1/20$ c. c.);

2° Contrairement aux sérums sanguins, le lait ne perd pas

sa toxicité après chauffage à 100°; il est encore très toxique à 120°; sa toxicité n'est touchée nettement qu'à partir de 130°;

3° Le pouvoir sensibilisant du lait soumis à des températures variant de 100 à 130°, subit la même graduation que le pouvoir toxique;

4° La sensibilisation n'a pas lieu lorsque le lait est administré par la bouche ou par le rectum;

5° Le lait possède un pouvoir vaccinant qui se conserve même après chauffage à 130° pendant 15 minutes;

6° La spécificité de la réaction anaphylactique n'est pas absolue pour les laits d'espèce déterminée; ainsi, les cobayes anaphylactisés avec du lait de vache réagissent à celui de chèvre;

7° La caséine possède un pouvoir sensibilisant, un pouvoir vaccinant et un pouvoir toxique; tout comme le lait entier;

8° Le petit-lait sensibilise ou ne sensibilise pas, suivant les cas; mais il est toujours vaccinant et il n'est jamais toxique;

9° Le principe actif du petit-lait est contenu, selon toute probabilité, dans la substance que l'on est convenu appeler lactoprotéine et qui doit se résorber facilement dans l'intestin;

10° On réalise la vaccination antianaphylactique, en administrant le petit-lait ou bien le lait tout entier, soit par le rectum, soit par la bouche; c'est là un procédé de vaccination de choix : tout en étant rapide et sûr, il est absolument inoffensif et ne comporte point de sensibilisation, dans la suite, vis-à-vis d'une nouvelle injection de lait.

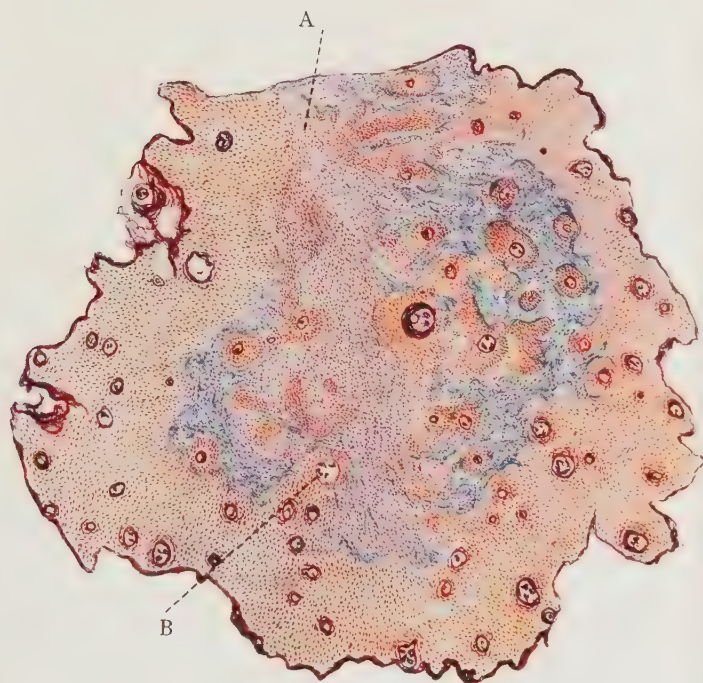


Fig. 1.

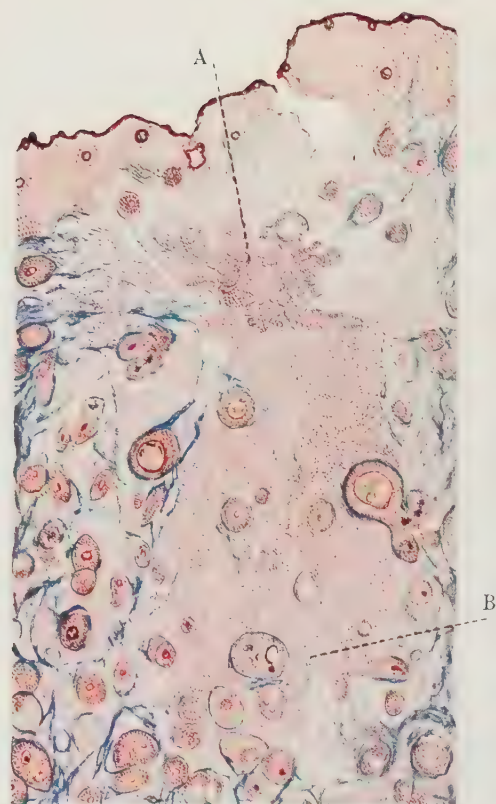


Fig. 3.



Fig. 2.

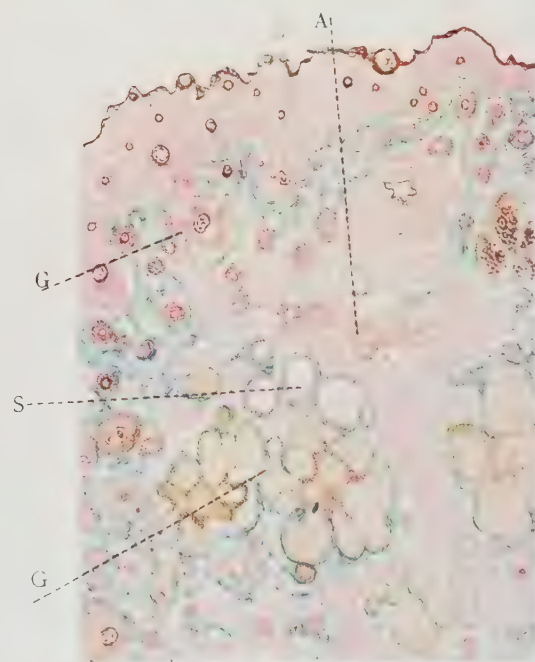


Fig. 4.



Fig. 5.



Fig. 6.

Fig. 1



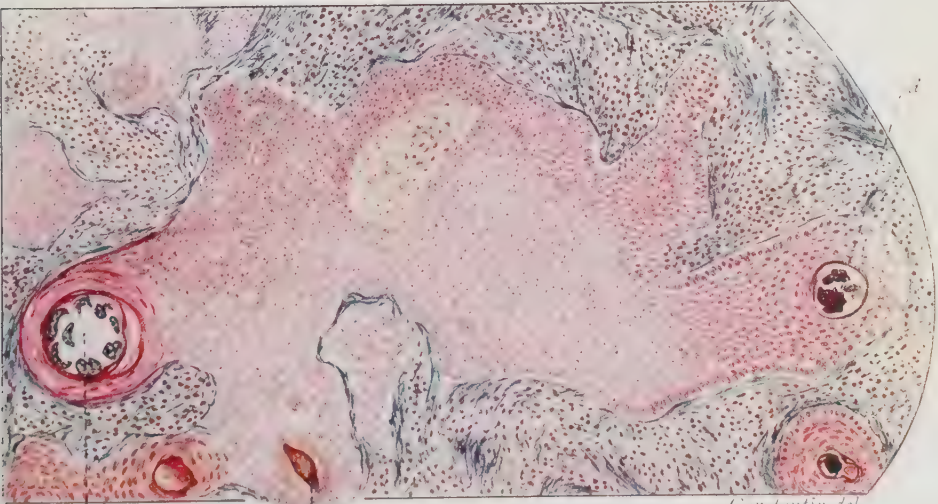
Photogravure Carl Hentschel, Paris

Ch. Constantin.



14

fig 2



d

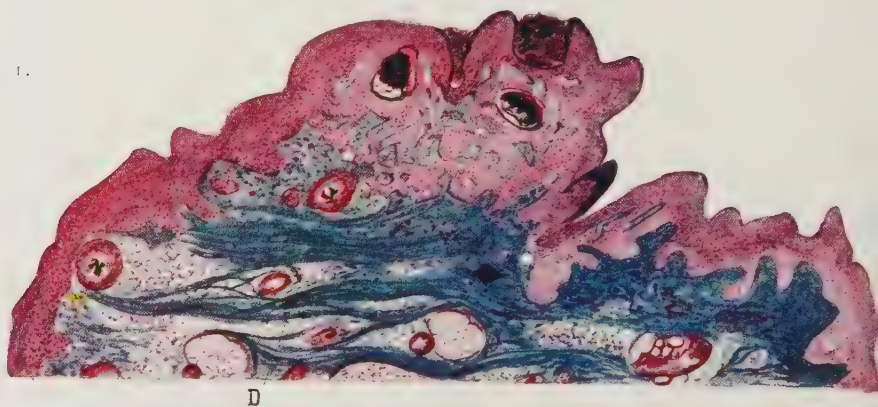
le mode

Constantin del



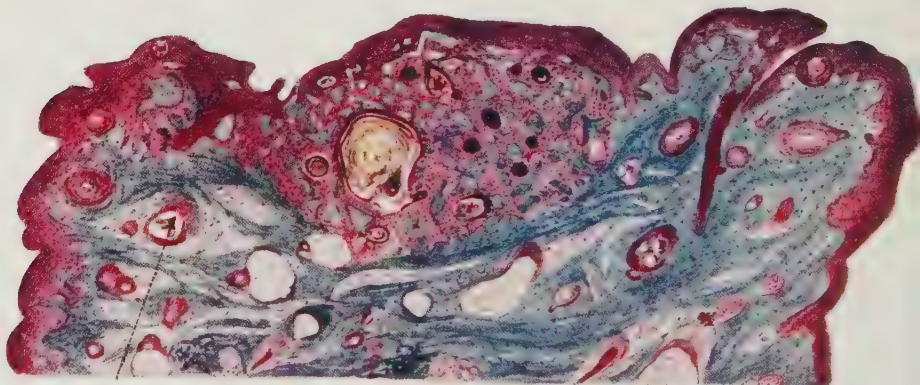
ANNALES DE L'INSTITUT PASTEUR

FIG. 1.



D

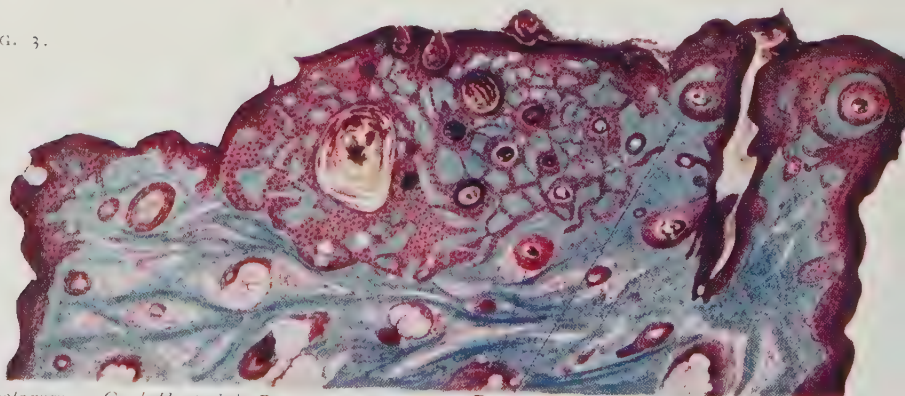
FIG. 2.



D

D

FIG. 3.



D

Photogravure Carl Hentschel, Paris

Roussel del

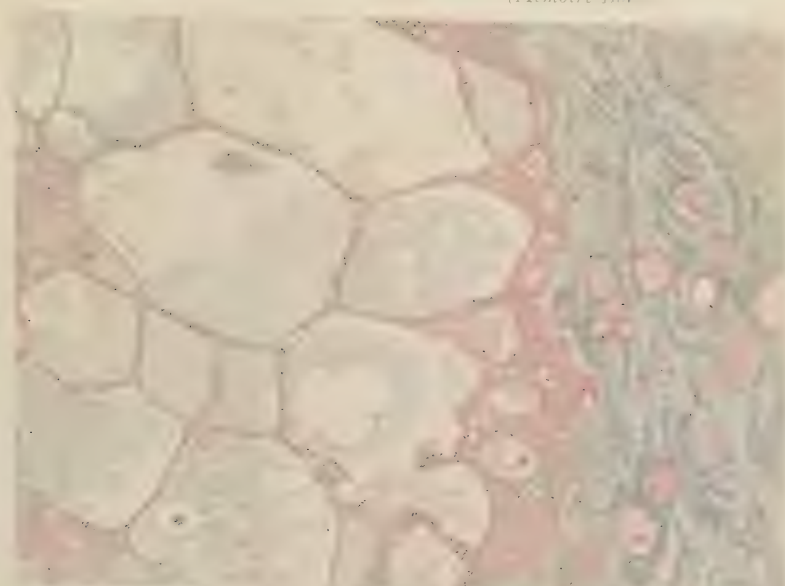


FIG. 4.

Roussel, n.





E

D



Roussel del

Volume XXIII. — Planche 6
(Mémoire Borrel)

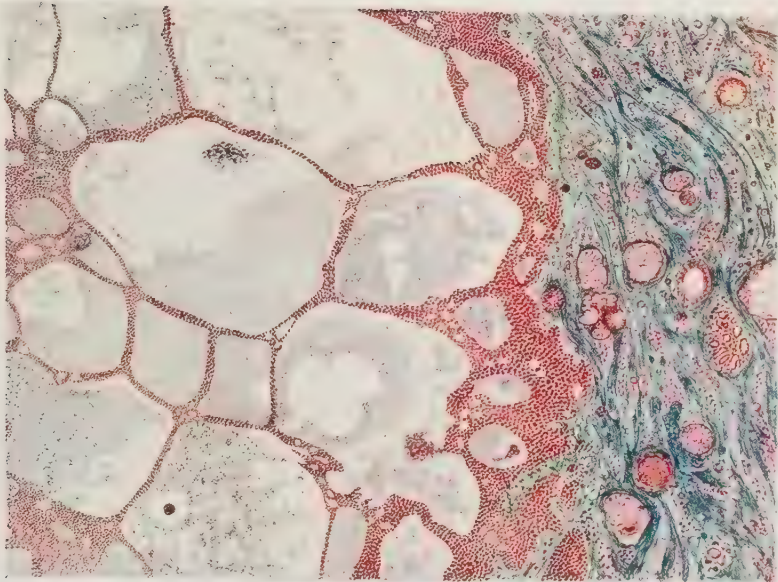


FIG. 4.

Rutsssel del

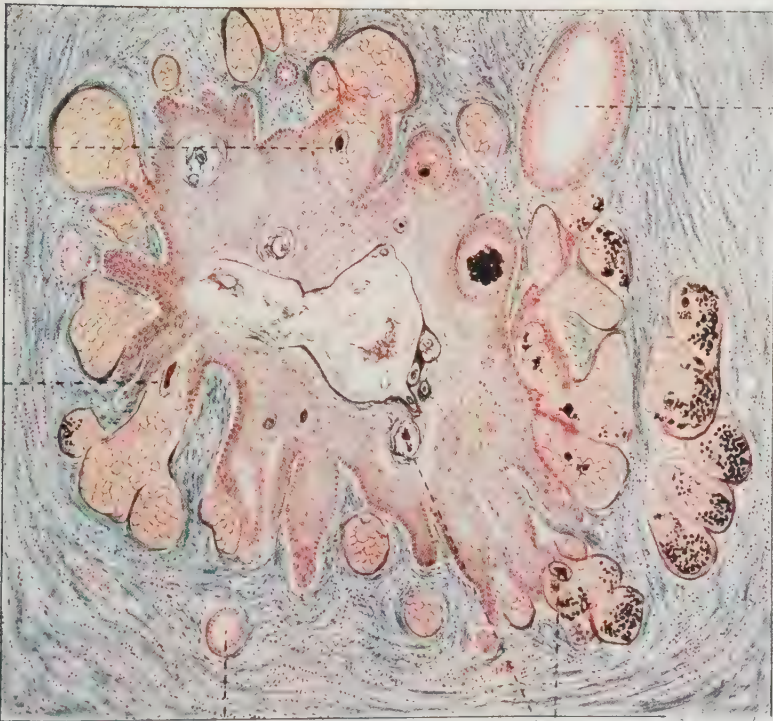


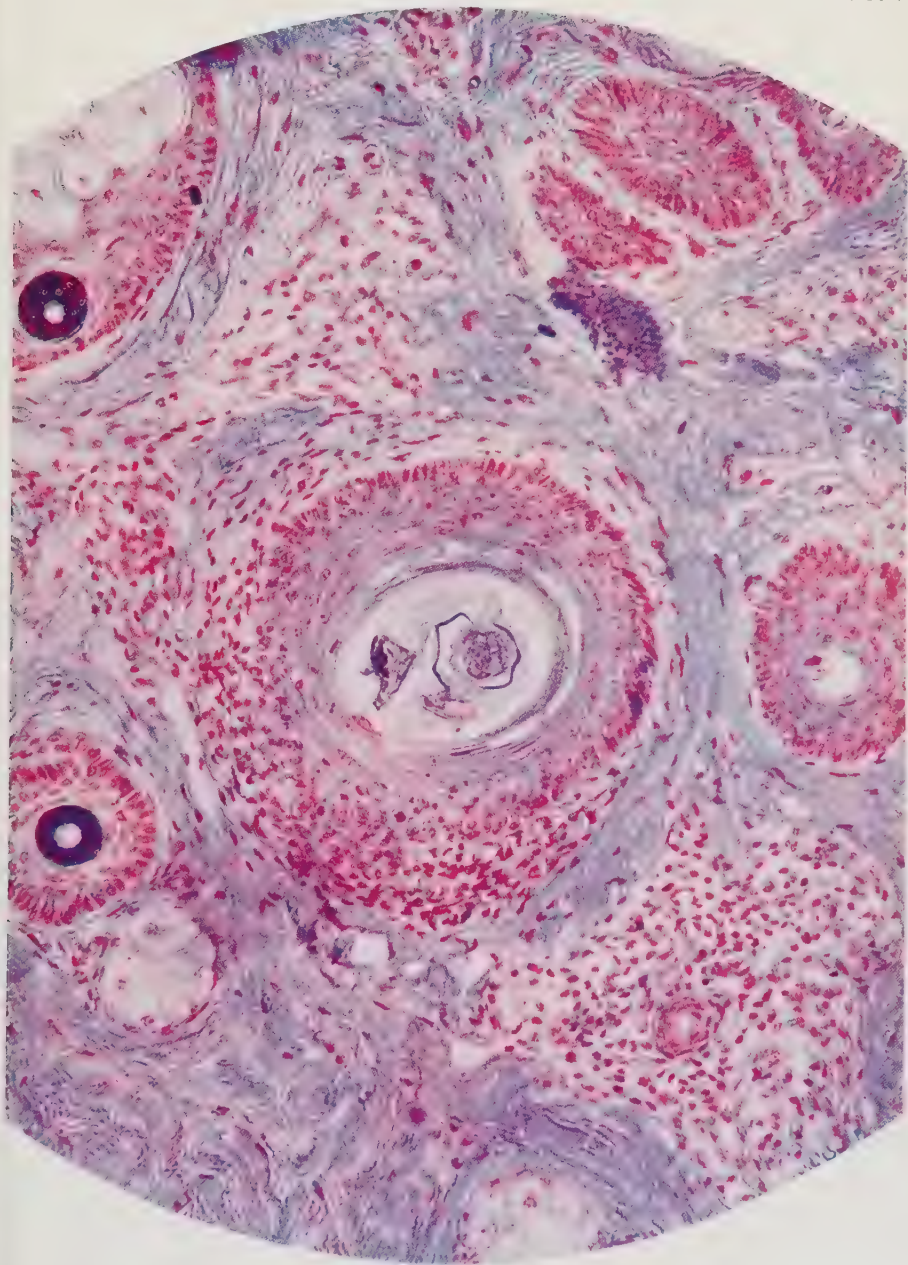
FIG. 5.

J

J



Photographie directe d'une préparation microscopique en deux couleurs.

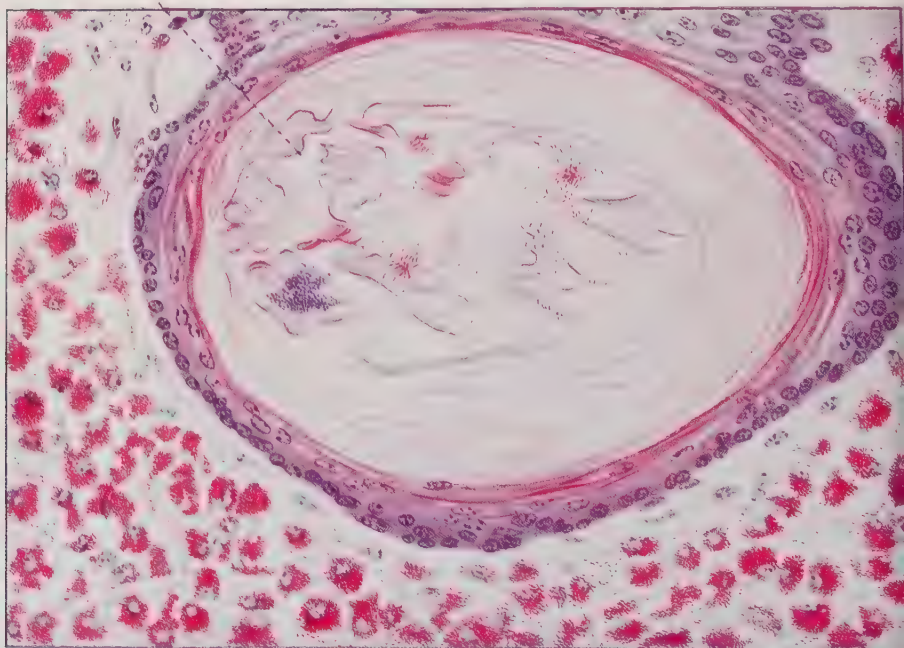


Photographie directe d'une préparation microscopique en deux couleurs.



Fig. 1.

Acariens



Photogr. Carl Heitschel

Fig. 2.

Fig. 3



Fig. 4



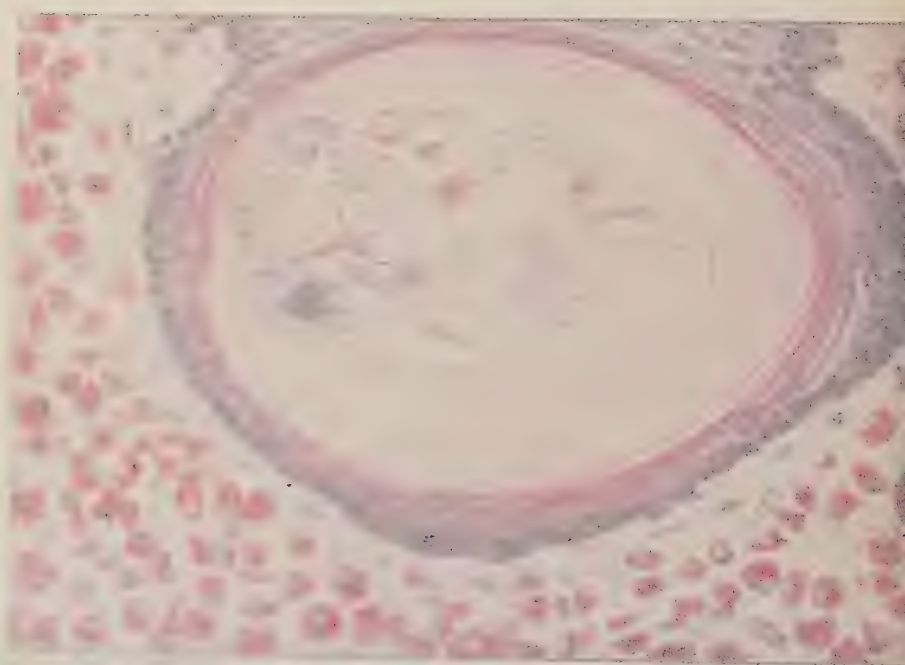


Fig. 3

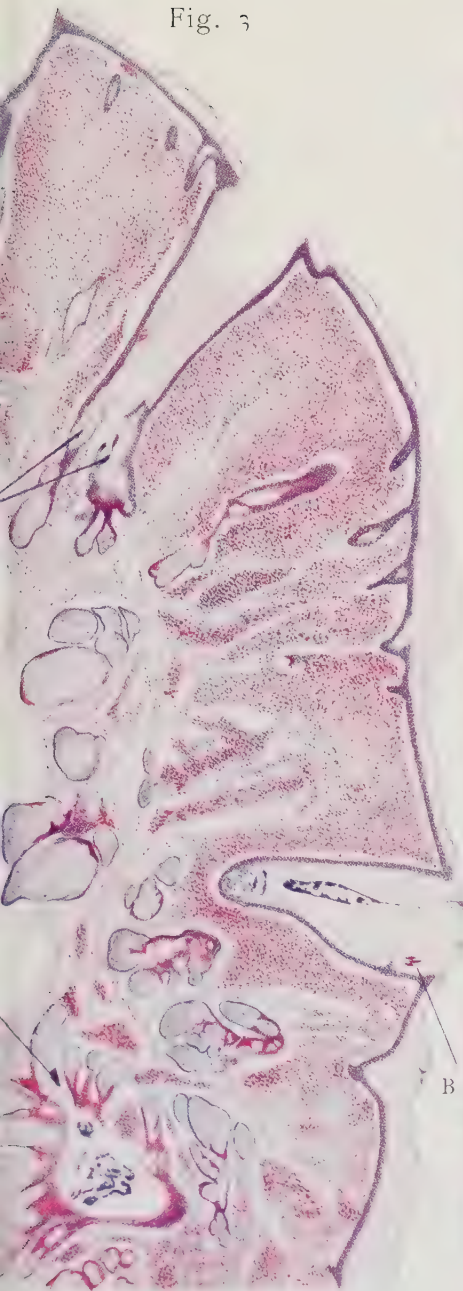


Fig. 4

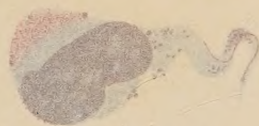
Acariens.



Constantin del.



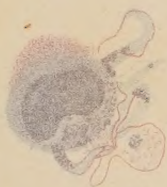
1



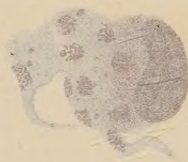
2



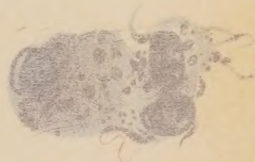
3



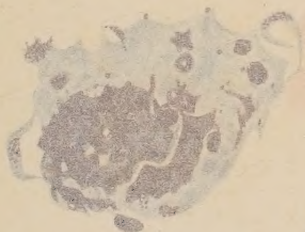
4



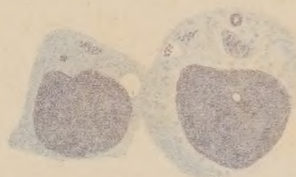
5



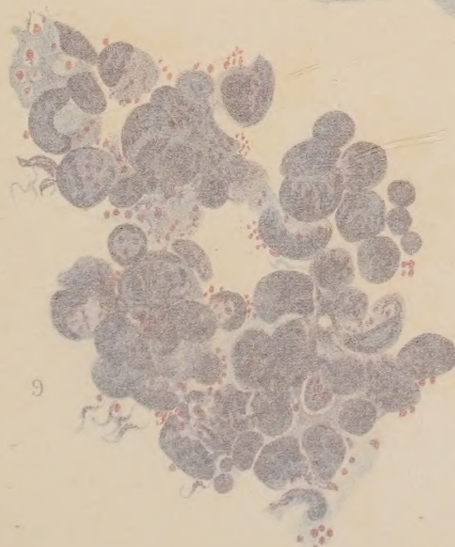
6



7



8



9

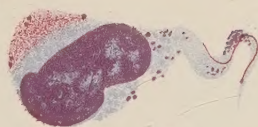
11



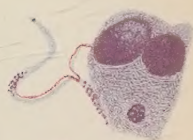
10



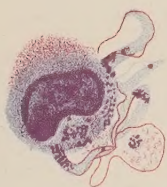
1



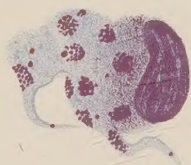
2



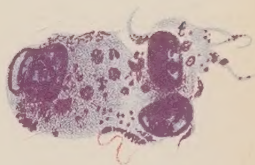
3



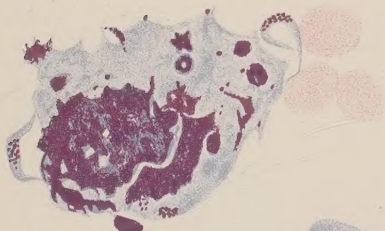
4



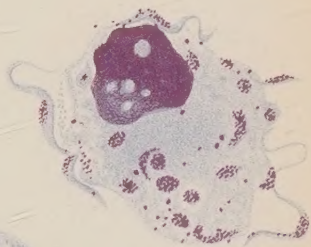
5



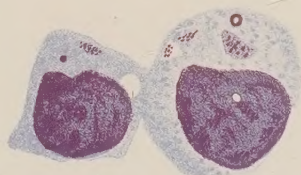
6



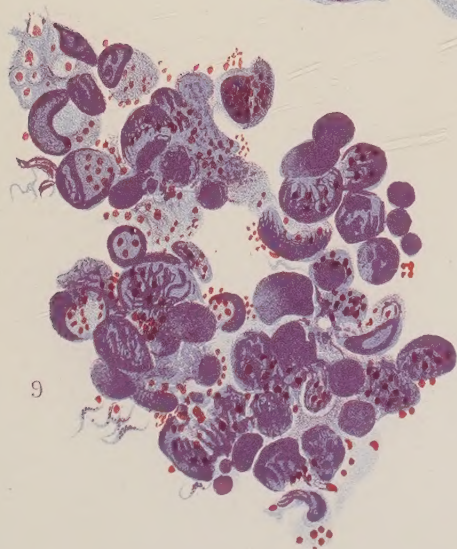
7



8



11



9



10

